

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»  
Направление «Медицина»

## **ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

На тему: Иммуногистохимические маркеры как фактор при оценке риска  
малигнизации интраэпителиальных пролиферативных образований молочной  
железы

Выполнила студентка 15.С04 группы  
Смолякова Мария Александровна

Научный руководитель: доцент, к.м.н  
Новицкая Татьяна Александровна

Санкт-Петербург  
2021 год

## Оглавление

Список сокращений .....	3
Введение .....	5
Актуальность проблемы .....	5
Цель и задачи исследования .....	7
Глава 1. Интраэпителиальные пролиферативные образования молочной железы. Современное состояние проблемы (обзор литературы) .....	8
1.1. Современная классификация интраэпителиальных пролиферативных образований молочной железы .....	8
1.2. Формирование представлений об интраэпителиальных неоплазиях молочной железы .....	9
1.3. Морфологические методы диагностики .....	12
1.3.1. Гистологическое исследование .....	12
Протоковая неоплазия .....	12
Дольковая неоплазия .....	15
1.3.2. Иммуногистохимическое исследование .....	19
Глава 2. Материалы и методы исследования .....	25
Глава 3. Результаты исследования .....	28
3.1. Результаты гистологического исследования .....	28
3.2. Результаты иммуногистохимического исследования .....	35
3.2.1. Экспрессия эпителиальных иммуногистохимических маркеров .....	35
3.2.2. Экспрессия стромальных иммуногистохимических маркеров .....	40
Заключение .....	49
Выводы .....	53
Список использованной литературы .....	54



## Список сокращений

**ВОЗ** - Всемирная организация здравоохранения

**ИГХ** - иммуногистохимия

**ADH** - atypical ductal hyperplasia - атипичная протоковая гиперплазия

**AJCC** - American Joint Committee on Cancer - Американский объединенный комитет по онкологическим заболеваниям

**ALH** - atypical lobular hyperplasia - атипичная дольковая гиперплазия

**CD** - cluster of differentiation - кластер дифференцировки

**СК** - cytokeratin - цитокератин

**CLCIS** - classic lobular carcinoma in situ - классическая дольковая карцинома in situ

**DCIS** - ductal carcinoma in situ - протоковая карцинома in situ

**DIN** - ductal intraepithelial neoplasia - протоковая интраэпителиальная неоплазия

**ER** - estrogen receptors - рецептор эстрогена

**EZH2** - enhancer of zeste homolog 2 - энхансер гистонметилтрансферазы Zeste Homologue 2

**FAP-a** - fibroblast activation protein alpha - фактор активации фибробластов альфа

**FLCIS** - florid lobular carcinoma in situ - флоридная дольковая карцинома in situ

**FOXP3** - forkhead box protein 3 - вилочная коробка P3

**HER2** - human epidermal growth factor receptor 2 - рецептор эпидермального фактора роста, тип 2

**HMWCK** - high-molecular weight cytokeratin - цитокератины высокой молекулярной массы

**IDC** - invasive ductal carcinoma

**ILC** - invasive lobular carcinoma - инвазивная дольковая карцинома

**LCIS** - lobular carcinoma in situ - дольковая карцинома in situ

**LIN** - lobular intraepithelial neoplasia - дольковая интраэпителиальная неоплазия

**PLCIS** - pleomorphic lobular carcinoma in situ - плеоморфная дольковая карцинома in situ

**PR** - progesterone receptor - рецептор прогестерона

**P4HA2** - Prolyl 4-Hydroxylase Subunit Alpha 2 - субъединица альфа-2 пролил-4-гидроксилазы

**SMA** - smooth muscle actin - актин гладких мышц

**TDLU** - terminal duct lobular unit - терминальная дольково-протоковая единица

**UDH** - usual ductal hyperplasia - обычная протоковая гиперплазия

## **Введение**

### **Актуальность проблемы**

В настоящее время рак молочной железы является наиболее часто диагностируемой формой рака и основной причиной смерти от злокачественных новообразований среди женского населения. По данным GLOBOCAN в 2018 году примерно у 2.100.000 женщин в мире был диагностирован рак молочной железы, что составляет 24% всех зарегистрированных случаев рака среди женщин. По приблизительным оценкам, около 630.000 женщин в мире умерли от рака молочной железы (15% от общего числа смертей от рака) [1].

Не только в мире, но и в Российской Федерации рак молочной железы является ведущей онкологической патологией у женщин. В 2019 году в Российской Федерации было зарегистрировано 73.918 случаев рака молочной железы, что составляет 21,2% в структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями среди женского населения Российской Федерации. Среднегодовой темп прироста заболеваемости раком молочной железы (стандартизованный показатель) составил 1,93%, а прирост заболеваемости (стандартизованный показатель) составил 21,61% за период с 2009 по 2019 годы. Также злокачественные новообразования молочной железы имеют наибольший удельный вес в структуре смертности женщин от злокачественных новообразований - 15,9%. Однако стоит отметить снижение показателей смертности женщин от рака молочной железы - за период с 2009 по 2019 годы смертность от данной патологии снизилась на 20,69% (стандартизованный показатель), а среднегодовой темп снижения показателя смертности составил 2,33% (стандартизованный показатель) [2].

Приведенные эпидемиологические данные свидетельствуют о необходимости повышения эффективности существующих методов диагностики злокачественных новообразований молочной железы с целью

снижения показателей заболеваемости и смертности от данной патологии. Одним из направлений является оптимизация морфологической диагностики для раннего выявления предраковых образований, а также неинвазивных форм рака молочной железы.

По данным А.Д. Каприна и соавторов в 2019 году было выявлено 1357 случаев рака молочной железы *in situ*, что составляет 1.8 на 100 случаев злокачественных новообразований молочной железы. Из них в Санкт-Петербурге было выявлено 102 случая рака молочной железы *in situ*, то есть 3,1 на 100 случаев злокачественных новообразований молочной железы [2].

Повышение эффективности выявления интраэпителиальных пролиферативных образований молочной железы может быть достигнуто посредством использования дополнительных методов морфологической диагностики, в том числе иммуногистохимического исследования биоптатов молочной железы. Однако прогностическое значение, а следовательно, и тактика лечения некоторых форм неинвазивных образований молочной железы вплоть до настоящего времени является предметом дискуссий.

На данный момент большая часть неинвазивных новообразований молочной железы считается фактором риска или необлигатным предшественником инвазивной карциномы. Безусловно, наличие данных неоплазий ассоциировано с повышенным риском развития инвазивной карциномы, однако далеко не каждое интраэпителиальное пролиферативное образование в течение жизни прогрессирует до инвазивной карциномы. В то же время отсутствуют критерии дифференциальной диагностики индолентных и агрессивных форм течения неинвазивных пролиферативных новообразований молочной железы, что затрудняет формирование индивидуального подхода к терапии неинвазивных пролиферативных новообразований и зачастую вынуждает клиницистов выбирать более радикальный подход к терапии.

## **Цель и задачи исследования**

Цель исследования: Определить роль экспрессии иммуногистохимических маркеров при оценке риска малигнизации интраэпителиальных пролиферативных образований молочной железы.

Задачи исследования:

1. Провести отбор материала для исследования путем ретроспективного анализа гистологических образцов
2. Исследовать отобранный материал с применением метода световой микроскопии
3. Исследовать экспрессию эпителиальных и стромальных иммуногистохимических маркеров в отобранных образцах и оценить паттерн экспрессии иммуногистохимических маркеров в интраэпителиальных пролиферативных образованиях молочной железы разной степени злокачественности
4. Сделать выводы на основании полученных результатов

# **Глава 1. Интраэпителиальные пролиферативные образования молочной железы. Современное состояние проблемы (обзор литературы)**

## **1.1. Современная классификация интраэпителиальных пролиферативных образований молочной железы**

В соответствии с Международной гистологической классификацией (классификация Всемирной Организации Здравоохранения, 5-е издание, 2019 год) к группе интраэпителиальных пролиферативных образований молочной железы относятся:

- Неинвазивная дольковая неоплазия
  - Классическая дольковая карцинома in situ
  - Флоридная дольковая карцинома in situ
  - Плеоморфная дольковая карцинома in situ
- Протоковая карцинома in situ (DCIS)
  - DCIS низкой степени злокачественности
  - DCIS средней степени злокачественности
  - DCIS высокой степени злокачественности
- Папиллярная протоковая карцинома in situ

В пятом издании Международной гистологической классификации, как и в предыдущих редакциях, отражено деление образований молочной железы на доброкачественные и злокачественные новообразования, а также неопухолевые образования молочной железы, к которым относится, например, обычная протоковая гиперплазия [3].

## **1.2 Формирование представлений об интраэпителиальных неоплазиях молочной железы**

Интраэпителиальные пролиферативные образования молочной железы объединяют группу неоплазий как дольковых, так и протоковых структур молочной железы, которые весьма гетерогенны по своим клиническим проявлениям, критериям морфологической диагностики и подходам к терапии. Данное разнообразие служит препятствием на пути к формированию единой концепции морфогенеза данных неоплазий.

Система взглядов на интраэпителиальные неоплазии, особенно на их естественное течение и прогностическое значение, непрерывно менялась на протяжении более века и до сих пор остается предметом дискуссий многих патологов. Одно из первых упоминаний интраэпителиальных пролиферативных новообразований молочной железы принадлежит французскому гистологу A. V. Cornil, который в 1865 году описал “intraepithelial breast carcinoma in lobules” – «интраэпителиальную карциному молочной железы в дольках», что соответствует современному определению дольковой интраэпителиальной неоплазии [4].

Во втором издании Международной гистологической классификации протоковая карцинома *in situ* и дольковая карцинома *in situ* были выделены в категорию неинвазивных новообразований молочной железы [3].

Позже, в третьем издании было представлено разделение протоковой карциномы *in situ* на три степени злокачественности, основанное на морфологии ядер клеток протокового эпителия. Таким образом, были выделены DCIS низкой, промежуточной и высокой степени злокачественности [5]. Также в третьем издании классификации ВОЗ была предложена альтернативная номенклатура неинвазивных протоковых новообразований, включающая плоскую эпителиальную атипию, атипическую протоковую гиперплазию и

различные степени DCIS в составе интраэпителиальной протоковой неоплазии – DIN[3].

Протоковая карцинома *in situ* (DCIS) является необлигатным предшественником инвазивной карциномы молочной железы [6]. Следует подчеркнуть, что доказательства того, что DCIS является предшественником инвазивной карциномы молочной железы, косвенные, но убедительные: инвазивная карцинома нередко встречается на фоне DCIS, женщины с диагнозом DCIS имеют в 10 раз более высокий риск развития ипсилатеральной инвазивной карциномы при отсутствии лечения, при этом DCIS и инвазивная карцинома имеют сходные генетические и молекулярные особенности, данные микроскопического исследования также демонстрируют преемственность между DCIS и инвазивной карциномой [7].

Очевидно, в понимании патогенеза, морфологии и молекулярно-генетических характеристик протоковой карциномы *in situ* произошли значительные изменения. Например, прежняя убежденность в том, что обычная протоковая гиперплазия (UDH) предшествует в своем развитии атипичной гиперплазии (ADH), которая затем прогрессирует до DCIS и далее - до инвазивной карциномы молочной железы, было опровергнуто, и UDH теперь считается доброкачественной гиперпластической пролиферацией, а ADH - опухолевой [8].

Первая иллюстрация, соответствующая морфологической картине дольковой карциномы *in situ*, была опубликована Ewing в 1919 году в учебнике «Neoplastic Diseases: A Textbook on Tumors». Представленная на иллюстрации гистологическая картина была описана автором как «атипическая пролиферация ацинарного эпителия» [9]. Стоит отметить, что при описании концепции рака *in situ* в 1932 Broders предположил, что переход от рака *in situ* к инвазивной стадии неизбежен [10]. Вероятно именно поэтому, когда в 1941 году Foote и Stewart впервые объединили описанные выше морфологические изменения под



термином «lobular carcinoma in situ» (LCIS) - «дольковая карцинома in situ», авторами была выдвинута гипотеза о том, что LCIS является облигатным предшественником ILC [11]. Haagensen первым поставил под сомнение неизбежность прогрессирования LCIS в ILC и пришел к выводу, что дольковая карцинома in situ является доброкачественным новообразованием, если она не сопутствует инвазивной карциноме молочной железы [10]. В настоящее время доказано, что LCIS несет в себе те же генетические aberrации, которые обнаруживаются при инвазивных карциномах молочной железы, что позволило вернуться к предположению о том, что LCIS является не только фактором риска инвазивного рака молочной железы, но и его предшественником [12]. Установлено, что риск развития инвазивной карциномы молочной железы после установления диагноза LCIS постепенно нарастает в течение длительного периода времени и спустя 25 лет достигает примерно 30% для ипсилатеральной молочной железы и 26% для контралатеральной молочной железы [13].

Как было упомянуто выше, дольковая карцинома in situ (LCIS) была впервые выделена в отдельную категорию во втором издании Международной гистологической классификации ВОЗ [3]. В третьем издании классификации ВОЗ была предложена трехуровневая градация дольковой интраэпителиальной неоплазии (LIN), основанная на пролиферативной активности, цитологических характеристиках и распространенности патологического процесса [14]. Однако данный подход не нашел отражения в последующих изданиях классификации: в четвертом издании произошло изменение в терминологии дольковой карциномы in situ, в соответствии с которым LCIS подразделялась на атипичную дольковую гиперплазию (ALH), а также плеоморфную и классическую формы LCIS [15]. В пятом издании гистологической классификации ВОЗ группа LCIS была расширена за счет флоридной формы дольковой карциномы in situ [3].

### **1.3. Морфологические методы диагностики**

#### **1.3.1. Гистологическое исследование**

Принципиальным с точки зрения морфологической диагностики является разделение образований молочной железы, в том числе неинвазивных, на дольковые и протоковые.

##### **Протоковая неоплазия**

Обычная протоковая гиперплазия (UDH) - это доброкачественное пролиферативное новообразование молочной железы [16]. Было показано, что UDH ассоциирована с низким риском развития рака молочной железы и считается необлигатным предшественником ADH и DCIS [17]. UDH характеризуется наличием клеток с относительно небольшими ядрами, которые незначительно варьибельны по размерам и форме, что придает пролиферации полиморфный вид. UDH состоит из смешанной популяции клеток, демонстрирующих признаки дифференцировки как просветного эпителия, так и миоэпителиальных клеток [17]. Хроматин пролиферирующих клеток эухроматический, иногда визуализируются небольшие ядрышки. Эозинофильные внутриядерные псевдовключения являются распространенным явлением, но присутствуют не во всех случаях обычной протоковой гиперплазии. Цитоплазма эозинофильная, небильная, границы клеток обычно нечеткие. Во многих случаях UDH наблюдается созревание клеток: по мере того, как клетки продвигаются от базального слоя к центру пролиферации, они постепенно уменьшаются в размерах [18].

Атипичная протоковая гиперплазия имеет сходные с DCIS низкой степени злокачественности морфологические, иммуногистохимические и молекулярные признаки. ADH характеризуется пролиферацией атипичных эпителиальных клеток с круглыми мономорфными ядрами с архитектурной атипией - формированием перекладин, крибриформных или микропапиллярных структур,

которые либо не полностью вовлекают просвет протоков, либо, если эти протоки полностью поражены, их количество меньше 2 или диаметр поражения менее 2 мм [19]. Таким образом, подобно различию между ALH и LCIS, различие между DCIS низкой степени злокачественности и ADH в основном количественное и несколько субъективное, однако риск развития инвазивного рака молочной железы при DCIS низкой степени выше, чем при ADH [17]. ADH характеризуется мономорфной атипией клеток, неопластические клетки имеют незначительно увеличенные ядра округлой или овальной формы. Характерное для обычной протоковой гиперплазии созревание клеток при ADH не наблюдается. Для атипичной протоковой гиперплазии характерно сохранение клеточной полярности: атипичные клетки ориентированы апикальной поверхностью по направлению к прилежащему просвету, таким образом воспроизводя апикально-базальную полярность нормальных протоковых клеток [20]. Хроматин атипичных клеток гиперхромный, распределен равномерно, ядрышки обычно незаметны. Цитоплазма увеличена в объеме по сравнению с нормальными клетками и имеет бледный цвет. Границы клеток часто более четкие, чем при обычной протоковой гиперплазии [21]. Атипичная протоковая гиперплазия возникает из дифференцированных железистых клеток и, по-видимому, не является неопластической трансформацией обычной протоковой гиперплазии [16].

DCIS характеризуется клональной пролиферацией эпителиальных клеток внутри протоков молочных желез и терминальных протоково-дольковых единиц (TDLU) при отсутствии инвазии базальной мембраны. DCIS считается необлигатным предшественником инвазивной карциномы молочной железы. Показано, что значительная часть DCIS протекает бессимптомно и никогда не прогрессирует в инвазивную карциному молочной железы [22]. Поскольку в настоящее время невозможно отличить индолентную DCIS от агрессивной

формы, существует значительная неопределенность в отношении подходов к оптимальной индивидуальной терапии данного состояния [23].

В рамках DCIS идентифицированы три формы гетерогенности - геномная, фенотипическая и композиционная, однако с учетом определения DCIS как неинвазивного поражения, ограниченного неповрежденной базальной мембраной, пространственная гетерогенность, то есть неоднородная пространственная организация компартментов опухоли и стромы относительно друг друга, также является важной характеристикой DCIS [24]. Таким образом, DCIS чрезвычайно вариабельна, в том числе с точки зрения архитектоники. Можно выделить несколько видов роста, наиболее распространенные из которых - солидный, папиллярный, микропапиллярный и крибриформный паттерны [6]. В некоторых случаях DCIS наблюдается всего один паттерн роста, однако примерно в половине случаев наблюдается несколько паттернов, например, одновременно крибриформные и солидные элементы, крибриформные и микропапиллярные структуры и другие комбинации [24].

Солидный характер роста характеризуется пролиферацией мономорфных клеток, которые заполняют просвет TDLU. Некоторые авторы выделяют «цепляющийся» характер роста как отдельный паттерн, представленный протоком, выстланным одним или несколькими слоями выражено атипичных неопластических клеток на периферии и заполненный обильным комедонекрозом. Некоторые эксперты считают данный характер роста вариацией солидного паттерна роста с обширным некрозом [6].

Папиллярный паттерн DCIS представлен атипичной внутрипротоковой пролиферацией с фиброваскулярным стержнем, лишенным миоэпителиального слоя, в то время как на периферии миоэпителиальный слой сохраняется. Папиллярный DCIS обычно ассоциирован с другими паттернами DCIS или инвазивной протоковой карциномой [25].

Микропапиллярная DCIS характеризуется пролиферацией пучков неопластических клеток, выступающих в просвет TDLU. Данные популяции клеток характеризуются отсутствием фиброваскулярных ядер, нередко имеют булавовидный конец [6]. Протоки расширены, с небольшими булавовидными папиллярными выступами, простирающимися в просвет протока. Данные выступы могут образовывать арки, что является отличительной особенностью данного паттерна роста. Микропапиллярный подтип DCIS связан с распространенным характером заболевания, а также с мультифокальным и мультицентрическим характером роста [26].

Крибриформный характер роста характеризуется внутрипротоковым разрастанием с сетчатым или фенестрированным рисунком [27]. Вторичные просветы внутри протоковой пролиферации, как правило, круглые и ригидные [28].

Одной из значимых характеристик DCIS является выраженность некроза. Комедо-некроз обычно наблюдается при DCIS средней и высокой степени злокачественности. Как правило, это кальцинированный некроз в центре пораженного протока [29]. Некоторые исследования продемонстрировали, что выраженный комедо-некроз связан с повышенным риском местных рецидивов после лампэктомии (секторальной резекции) по поводу DCIS [6].

#### **Дольковая неоплазия**

Действующая гистологическая классификация новообразований молочной железы (5-е издание международной гистологической классификации ВОЗ 2019 года) определяет дольковую неоплазию как спектр атипичных эпителиальных образований, исходящих из терминальной дольково-протоковой структурной единицы и характеризующихся пролиферацией мелких мономорфных клеток с или без педжетоидного распространения на терминальные протоки [30]. Примечательно, что с ALH и LCIS с точки зрения морфологии представлены

идентичными клетками и единственным их отличием считается степень распространенности патологического процесса: при поражении менее 50% ацинусов и терминальных протоков гистологическая картина соответствует ALH, а при вовлечении в патологический процесс более 50% ацинусов и терминальных протоков - LCIS [31].

Выше уже было сказано, что с момента первого описания LCIS считалась непосредственным предшественником инвазивной дольковой карциномы (ILC), в силу чего методом выбора терапии данного состояния была мастэктомия. Однако данные исследований, проведенных в 1970-х годах Haagensen и его коллегами, а также другими исследователями, показали, что риск развития рака молочной железы после постановки диагноза LCIS был ниже, чем ожидалось для прямого предшественника ILC [32]. Это вызвало разногласия относительно клинического значения LCIS и привело к противоречивым рекомендациям по подходам к терапии - от регулярного наблюдения за динамикой процесса до двусторонней мастэктомии [33]. На данный момент показано, что классическая форма LCIS ассоциирована с 7-10 кратным увеличением риска развития инвазивной карциномы молочной железы, причем абсолютный риск развития ILC в течение года составляет 1-2%, а риск в течение жизни достигает 30-40% [30]. Таким образом, в современной практике диагноз LCIS воспринимается как фактор риска, а не только как предшественник ILC, поэтому радикальное лечение перестало быть предпочтительным методом терапии [34].

Истинная распространенность LCIS среди населения неизвестна в силу того факта, что у большинства женщин симптомы заболевания отсутствуют, а в большинстве случаев отсутствуют и какие-либо специфические клинические или радиологические проявления. Распространенность LCIS по данным гистологического исследования биоптатов молочной железы составляет 0,5–3,6% [30].

В соответствии с гистологической классификацией дольковая карцинома *in situ* включает три гистологические формы: классическую, плеоморфную и флоридную. Классическая форма LCIS (CLCIS) чаще всего диагностируется у женщин в пременопаузе (средний возраст 45-50 лет), тогда как плеоморфная (PLCIS) и флоридная форма (FLCIS) чаще встречаются в постменопаузе (средний возраст 60-70 лет) [30].

Классическая форма LCIS представляет собой мономорфную пролиферацию неполяризованных клеток округлой или овальной формы с малым объемом цитоплазмы, центрально расположенными мелкими ядрами и малозаметными ядрышками [35]. Образование распространяются на большую часть (более 50%) ацинусов, может наблюдаться педжетоидное распространение LCIS на терминальные протоки, тогда проток в поперечном сечении имеет форму “листа клевера” [36]. CLCIS свойственна мультифокальная, мультицентричная или билатеральная локализация. Классическая форма LCIS подразделяется на два подтипа в зависимости от морфологии неопластических клеток. Тип А представлен мелкими клетками с незначительно увеличенными ядрами, окруженными едва заметной цитоплазмой, данные клетки мономорфны, заполняют собой просвет ацинусов и прилежающих протоков, митозы отсутствуют или редки. Тип В представлен более крупными клетками, которые имеют светлое ядро с неравномерным распределением хроматина и мелкими ядрышками, встречаются редкие митозы, также данные клетки содержат обильную светлую цитоплазму [15].

Плеоморфная LCIS встречается реже и составляет 4% всех дольковых неоплазий [30]. Морфологическая картина плеоморфной формы LCIS сходна с таковой при классической форме, однако для первой характерны наличие более крупных клеток округлой или овоидной формы с обильной гранулярной или пенистой эозинофильной цитоплазмой, крупными плеоморфными гиперхромными ядрами, высокая степень ядерной атипии и четкие ядрышки. В

некоторых случаях могут наблюдаться черты апокринной дифференцировки [35]. Центральные некрозы и кальцификаты также нередко встречаются при плеоморфной LCIS [37]. Наличие микрокальцинатов позволяет диагностировать плеоморфную форму LCIS с помощью скрининговой маммографии [30]. По данным некоторых исследований, классическая форма LCIS сочетается с плеоморфной в более чем 40% случаев [36].

Флоридная форма LCIS отличается сливным характером роста с небольшим количеством промежуточной стромы. Как и плеоморфная форма LCIS, флоридная форма часто сопровождается формированием комедо-некрозов [38].

На данный момент данные об естественном течении плеоморфной и флоридной форм LCIS ограничены, в связи с чем затруднена оценка риска локального рецидива после резекции пораженного участка молочной железы, а вопрос об оптимальном подходе к терапии данных состояний до сих пор остается дискуссионным [30].

Также следует уделить внимание понятию микроинвазивного рака молочной железы. Руководство AJCC по стадированию рака определяет микроинвазивную карциному как «распространение раковых клеток за пределы базальной мембраны в прилегающие ткани с фокусом не более 0,1 см в наибольшем измерении» [39]. Микроинвазивная карцинома встречается относительно редко и составляет менее 1% всех случаев рака молочной железы [40]. Данная форма рака молочной железы нередко ассоциирована с протоковой карциномой *in situ* высокой степени злокачественности [41].

К клиничко-патологическим факторам, которые ассоциированы с риском микроинвазии, ряд исследователей относит наличие DCIS высокой степени злокачественности (high nuclear grade), большую распространенность процесса



(средний размер образования  $\geq 3,2$  см), наличие некроза и архитектурный паттерн комедо-типа [40].

Данные об естественном течении и клиническом прогнозе микроинвазивной карциномы остаются противоречивыми. Анализ данных ряда клинических исследований не выявил различий в частоте рецидивов у пациентов с DCIS без микроинвазии по сравнению с пациентами с микроинвазивной карциномой, тогда как другие исследования свидетельствовали об обратном [39]. По данным Champion и соавторов, данные о выживаемости пациенток после установленного диагноза DCIS, DCIS с микроинвазией или инвазивной протоковой карциномы после соответствующей терапии варьировались в пределах 1–3%. Общая выживаемость различалась незначительно между DCIS с микроинвазией и инвазивной протоковой карциномой, но была немного хуже для DCIS с микроинвазией, чем для DCIS без микроинвазии [41].

### **1.3.2. Иммуногистохимическое исследование**

Обычная протоковая гиперплазия характеризуется вариабельной экспрессией ER и PR и постоянной экспрессией высокомолекулярных цитокератинов [17]. Поскольку пролиферативные клетки при обычной протоковой гиперплазии не полностью люминальные по своему фенотипу, они сохраняют положительную реакцию на высокомолекулярные цитокератины базального типа (HMWCK) [16], такие как 34 $\beta$ E12, CK5, CK5/6, CK14, and CK17, причем паттерн экспрессии HMWCK имеет тенденцию быть неоднородным, мозаичным. Также наблюдается и неоднородная экспрессия низкомолекулярных цитокератинов CK7, CK8 и CK18 - цитокератинов люминального типа [42].

Несмотря на то, что ADH в первую очередь диагностируется по гистологическим признакам, иммуногистохимические маркеры могут быть

полезны при проведении дифференциальной диагностики атипичной протоковой гиперплазии от обычной гиперплазии протоков. При ADH, в отличие от UDH, отсутствует экспрессия высокомолекулярных цитокератинов, но визуализируется диффузная экспрессия ER [16]. Примечательно, что данные маркеры не могут быть использованы для того, чтобы отличить ADH от DCIS, поскольку данные новообразования имеют идентичный иммуногистохимический профиль экспрессии HMWCK и ER [42]. Таким образом, клетки ADH являются HMWCK-, однако остаточные нормальные клетки эпителия протоков могут быть источником экспрессии HMWCK, что не следует ошибочно принимать за окрашивание неопластических клеток [16]. Также для нормальных миоэпителиальных клеток и эпителия протоков характерна экспрессия 34bE12, которая отсутствует в ADH и DCIS низкой и средней степени злокачественности [43].

Распределение экспрессии рецепторов в DCIS сходно с таковым при инвазивной карциноме молочной железы. Около 75–80% демонстрируют ядерное окрашивание на рецептор эстрогена (ER), частота экспрессии рецепторов прогестерона (PR) при DCIS несколько ниже [43]. По данным М. Kim и соавт., экспрессия ER и PR превалирует в DCIS без инвазии, тогда как HER2-положительный статус опухоли и высокий индекс пролиферативной активности Ki-67 чаще наблюдаются при микроинвазивной карциноме. Более высокий индекс пролиферации Ki-67 коррелирует с мультифокальной микроинвазией. Фактором, ассоциированным с повышенным риском рецидива опухоли, считается наличие тройного негативного рака молочной железы [40].

В отличие от доброкачественных папиллом, папиллярная DCIS не имеет миоэпителиального слоя, что может быть продемонстрировано отсутствием окрашивания миоэпителиальными маркерами, такими как p63 и кальпонин. Однако, некоторые иммуногистохимические маркеры, такие как актин гладких мышц (SMA), могут окрашивать миоэпителиальные клетки, а также сосудистые

стенки в фиброваскулярных стержнях папиллярной DCIS, что не следует интерпретировать как свидетельство наличия миоэпителиального слоя [6].

В редких случаях базальноподобная DCIS может имитировать UDH, диффузно или неоднородно окрашиваясь маркерами CK5, CK5/6, CK14 или CK17, экспрессия ER и PR также может отсутствовать [42].

В силу того, что проведение дифференциальной диагностики между LCIS и DCIS имеет важное клиническое значение, в спорных случаях рекомендовано исследование экспрессии Е-кадгерина. Клетки протоковых новообразований обычно демонстрируют выраженное мембранное окрашивание, тогда как при большинстве дольковых новообразований мембранная экспрессия Е-кадгерина отсутствует [44]. Однако примерно в 10% случаев при DCIS наблюдается аберрантный паттерн экспрессии Е-кадгерина, характеризующийся неполным, фрагментированным окрашиванием мембран, диффузной цитоплазматической экспрессией или же точечным перинуклеарным окрашиванием [45]. В данных случаях могут быть использованы дополнительные иммуногистохимические маркеры, включая белки комплекса кадгерин-катенин, такие как  $\beta$ -катенин и p120. Отсутствие мембранной экспрессии  $\beta$ -катенина и цитоплазматического окрашивания P120 свидетельствует в пользу диагноза дольковой неоплазии [36].

Гистологические варианты LCIS весьма гетерогенны по степени экспрессии ИГХ-маркеров, используемых в диагностике рака молочной железы. Классическая форма LCIS диффузно положительна для ER, PR, но не экспрессирует HER2 [31]. При плеоморфном варианте LCIS редко имеется HER2-амплификация, однако чаще всего экспрессия HER2 в данном образовании все же не определяется. Апокринный вариант плеоморфной LCIS может характеризоваться отсутствием экспрессии ER и PR, но быть при этом HER2+ [30]. Флоридная LCIS, как правило, является ER+ и HER2-, но сообщается о редких HER2-положительных случаях [31].

Одним из направлений в изучении прогностической роли ИГХ-маркеров при оценке риска малигнизации интраэпителиальных неоплазий является исследование экспрессии маркеров иммунокомпетентных клеток в строме, окружающей новообразования молочной железы.

На ранних стадиях DCIS присутствует больше CD4<sup>+</sup>, чем CD8<sup>+</sup> лимфоцитов, но на более поздних стадиях наблюдается обратное соотношение: доля CD8<sup>+</sup> Т-клеток увеличивается по мере прогрессирования опухоли, CD8<sup>+</sup> Т-клетки чаще наблюдаются при IBC по сравнению с DCIS [46]. Также было показано, что низкий уровень CD8<sup>+</sup> Т-клеток, высокий уровень FOXP3<sup>+</sup> регуляторных Т-лимфоцитов, высокое количество В-клеток и высокая плотность CD68<sup>+</sup> и CD163<sup>+</sup> макрофагов ассоциированы с повышенным риском рецидива DCIS [47].

В настоящее время активно ведется работа по исследованию прогностического значения и других иммуногистохимических маркеров в интраэпителиальных новообразованиях молочной железы. Например, оценивается роль ядерной и цитоплазматической экспрессии маркера FOXP1 на разных стадиях развития инвазивной карциномы, а также в предраковых образованиях молочной железы. Результаты исследования Вао-Ниа Ю и соавторов продемонстрировали, что в подавляющем большинстве случаев (85%) UDH наблюдалось равномерное ядерное окрашивание FOXP1, в остальных случаях наблюдалась как ядерная, так и цитоплазматическая экспрессия FOXP1. Что касается ADH, то 40,0% наблюдений продемонстрировали ядерную экспрессию данного маркера, а в 60,0% случаев наблюдалась как ядерная, так и цитоплазматическая экспрессия. Только ядерная экспрессия FOXP1 присутствовала в 12,2% случаев DCIS, в то время как ядерная и цитоплазматическая экспрессия FOXP1 наблюдалась в большинстве наблюдений (82,9%), а в остальных случаях (4,9%) выявлено исключительно цитоплазматическое окрашивание. Стоит отметить, что при анализе экспрессии

FOXP1 в образцах IDC цитоплазматическое окрашивание наблюдалось чаще, чем исключительно ядерная экспрессия маркера, причем в 9,6% случаев наблюдалась полная потеря экспрессии FOXP1. Предполагаемый патогенез увеличения цитоплазматической экспрессии данного маркера по мере прогрессирования заболевания заключается в том, что кальпаин II (представитель суперсемейства цистеиновых протеиназ) может участвовать в транспортировке FOXP1 из ядра в цитоплазму, что патогенетически может быть связано с активацией сигнального пути АКТ. На основании полученных данных авторы исследования предположили, что цитоплазматическая экспрессия FOXP1 может являться неблагоприятным прогностическим фактором при новообразованиях молочной железы [48].

Также исследования продемонстрировали гиперэкспрессию белка EZH2 (белок группы Polycomb, который регулирует экспрессию генов посредством эпигенетических механизмов) примерно в половине случаев инвазивной карциномы молочной железы [49]. Показано, что экспрессия EZH2 в DCIS коррелировала с высокой степенью злокачественности, отсутствием экспрессии ER, наличием экспрессии HER2, а также высоким индексом Ki-67 [50]. При исследовании образцов молочной железы экспрессия EZH2 была повышена в морфологически доброкачественном эпителии, расположенном на границе ADH и DCIS [49]. Также существуют данные о том, что экспрессия EZH2 прогрессивно увеличивается от доброкачественных апокринных поражений до злокачественных [50]. На основании приведенных данных было высказано предположение о том, что определение экспрессии EZH2 может быть использовано для стратификации риска развития инвазивной карциномы молочной железы на фоне неинвазивных пролиферативных новообразований [51].

В исследовании Ziru Xu и соавторов было показано значительное снижение экспрессии маркера Nek9 в IDC по сравнению с доброкачественными

новообразованиями молочной железы. Более того, экспрессия Nek9 прогрессивно снижается от DCIS до инвазивной карциномы молочной железы и метастазов инвазивной карциномы, причем сниженная экспрессия Nek9 была ассоциирована с большим размером опухоли и высоким индексом Ki-67, что коррелирует с более агрессивными клинико-морфологическими характеристиками [52].

P4HA2 представляет собой ген, кодирующий фермент пролил-4-гидроксилазу, который участвует в синтезе коллагена. Роль данного гена и кодируемого им белка активно исследовалась в патогенезе миопии, однако Michael S. Toss и соавторы оценили экспрессию P4HA2 в неинвазивных новообразованиях молочной железы. Результаты исследования продемонстрировали повышение экспрессии данного маркера в клетках DCIS, причем высокая экспрессия P4HA2 была ассоциирована с факторами риска развития инвазивной карциномы, включая более молодой возраст манифестации, высокую степень злокачественности, тройной негативный и HER2-положительный фенотипы карциномы. На основании полученных данных, авторы предположили, что P4HA2 играет роль в прогрессировании DCIS и потенциально может использоваться для прогнозирования исхода неинвазивных новообразований молочной железы [53].

По данным Li-Na Yu и соавторов, сочетание экспрессии FAP-а (белок активации фибробластов  $\alpha$ ) в фибробластах стромы молочной железы и GOLPH3 (фосфопротеин Гольджи 3) в клетках протоковой карциномы *in situ* ассоциировано с более высоким риском рецидива DCIS и развитием IDC. Однако патогенетические механизмы сочетанной экспрессии данных маркеров до сих пор изучены недостаточно [54].

## Глава 2. Материалы и методы исследования

Практическая часть исследования проводилась на базе Патологоанатомического отделения СПб НИИФ в период с октября 2019 года по май 2021 года на основании ретроспективного анализа материала наблюдений, биопсийного, операционного и консультативного материала - препаратов молочной железы в период 2015-2020 годы. В ходе исследования было проанализировано 658 наблюдений, из которых для проведения практической части работы было отобрано 54 образца, содержащих интраэпителиальные новообразования молочной железы (обычная протоковая гиперплазия, атипическая протоковая гиперплазия, протоковая карцинома *in situ*, дольковая карцинома *in situ*, а также фиброаденоматоз с пролиферацией протоковых или дольковых структур). В ходе анализа микропрепаратов было отобрано 9 препаратов, содержащих комбинированные поражения молочной железы (обычная протоковая гиперплазия в сочетании с атипичной протоковой гиперплазией, протоковой карциномой *in situ*, дольковой карциномой *in situ*, а также фиброаденоматоз с обычной протоковой гиперплазией). Также 6 микропрепаратов для проведения исследования были предоставлены патологоанатомическим отделением ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И.Мечникова.

Таким образом, в исследование были включены женщины в возрасте от 34 до 67 лет. Средний возраст составил 45,8 лет. Локализация новообразования в правой молочной железе наблюдалась в 55,6% случаев.

Полученные образцы ткани молочной железы фиксировались в течение 24 ч в 10% растворе нейтрального забуференного формалина. При фиксации применялись для минимизации ошибок стандартные растворы и протоколы фиксации, валидизация реактивов.

На этапе проводки фиксированные образцы обрабатывались последовательно серией растворов спирта, ксилола, а затем горячего парафина.

После соответствующей обработки (обезвоживание в спиртах возрастающей концентрации) образцы молочной железы заключали в парафин с формированием парафиновых блоков.

Затем на микротоме были изготовлены гистологические срезы толщиной не более 3-5 мкм. Эти срезы помещались в емкость с водой, где были перенесены на стекла с адгезивным составом. Затем проводилась процедура депарафинизации срезов, срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Для проведения ИГХ-исследования были использованы серийные парафиновые срезы.

С помощью иммуногистохимического метода определялась экспрессия эпителиальных (ER, PR, Her2/Neu, p63, Ki-67, CK34be12, E-cadherin) и стромальных (CD3, CD4, CD8, CD20, CD31, CD56, CD68) иммуногистохимических маркеров.

Было использовано не прямое иммуногистохимическое окрашивание при использовании биотин-авидинового комплекса. В данном методе используются 2 различных антитела: первичные – реагируют на антигены ткани. Вторичные – вступают в реакцию с первичными, так как для них первичные антитела являются антигенами.

Для связывания антител и ферментов используется комплекс биотин-авидин.

Формирование комплекса происходит в 3 этапа:

1. Соединение первичных немеченых антител с антигеном.
2. Соединение первичных антител с вторичными.
3. АВС метод – соединение биотина вторичных антител с комплексом авидин-биотин-фермент.

На парафиновых срезах иммуногистохимическое исследование материала проводилось по протоколу, который был рекомендован фирмой-производителем.



В ходе проведения окрашивания ИГХ-методом проводилось выполнение исследований отрицательного контроля. Фиксация исследуемого материала осуществлялась в 10% нейтральном формалине, затем материал подвергался спиртовой дегидратации и заливке в парафиновые блоки.

После изготовления гистологических срезов, имеющих толщину 3 мкм, их помещали на покрытые полилизинном стекла. Затем препараты подвергались депарафинизации в трех порциях ксилола, после чего промывались в фосфатно-солевом буфере в течение 3–4 мин. В последующем препараты 20 мин обрабатывались 0,3% перекисью водорода.

Первичные антитела наносились на срезы после промывания их в двух порциях фосфатно-солевого буфера. Потом следовала инкубация при температуре 37 °С в течение 45 минут. После этого осуществлялась промывка материала в двух порциях фосфатно-солевого буфера по 5 мин в каждой.

В дальнейшем осуществлялось нанесение антивидового конъюгата DAKOEnVISION +SYSTEMHRP и инкубация в течение 45 минут при комнатной температуре. Далее осуществлялась промывка материала в двух порциях фосфатно-солевого буфера по 5 минут в каждой. В последующем обрабатывали 3,3-диаминобензидин тетрахлоридом в течение 2–3 минут. На заключительном этапе осуществлялась окраска гематоксилином.

В качестве продуктов положительной окраски в структурах ткани рассматривались гранулы светло- и темно-коричневого цвета.

## Глава 3. Результаты исследования

### 3.1. Результаты гистологического исследования

Развитие обычной протоковой гиперплазии на фоне фиброаденоматоза наблюдалось в 6 из 15 исследованных микропрепаратов. В 1 из препаратов было обнаружено развитие дольковой гиперплазии на фоне фиброаденоматоза. В 2 из 15 микропрепаратов наблюдалось развитие атипичной протоковой гиперплазии на фоне фиброаденоматоза. Морфологические признаки обычной протоковой гиперплазии в сочетании с атипической протоковой гиперплазией были обнаружены в 1 из микропрепаратов. Обычная протоковая гиперплазия в сочетании с дольковой карциномой *in situ* наблюдалась в 2 из 15 исследованных микропрепаратов молочной железы. Сочетание обычной протоковой гиперплазии с протоковой карциномой *in situ* и пролиферацией дольковых структур наблюдалось в 2 исследованных случаях. В 1 из 15 микропрепаратов было обнаружено сочетание протоковой и дольковой карциномы *in situ* с атипичной дольковой гиперплазией на фоне фиброаденоматоза молочной железы.

Фрагмент обычной протоковой гиперплазии (Рис. 1) представлен расширенными протоками, в которых определяются две субпопуляции клеток: клетки протокового эпителия и миоэпителиальные клетки. Клетки протокового эпителия расположены в 2-4 слоя, ориентированы в различном направлении, границы между ними нечеткие. Форма клеток протокового эпителия переменна - наблюдаются эпителиоциты округлой, продолговатой и полигональной формы, что придает неоплазии полиморфный вид. Цитоплазма клеток базофильная, ядра также полиморфны - форма от округлой до овальной, наблюдается тенденция к гиперхромии ядер, хроматин распределен равномерно, ядрышки не визуализируются. Клетки миоэпителия имеют форму от вытянутой при локализации по периферии протока, до округлой при локализации в центре

протока. Миоэпителиоциты имеют более светлую цитоплазму по сравнению с клетками протокового эпителия, ядра нормохромные с равномерным распределением хроматина, ядрышки не определяются. Митозы в представленном фрагменте препарата отсутствуют.

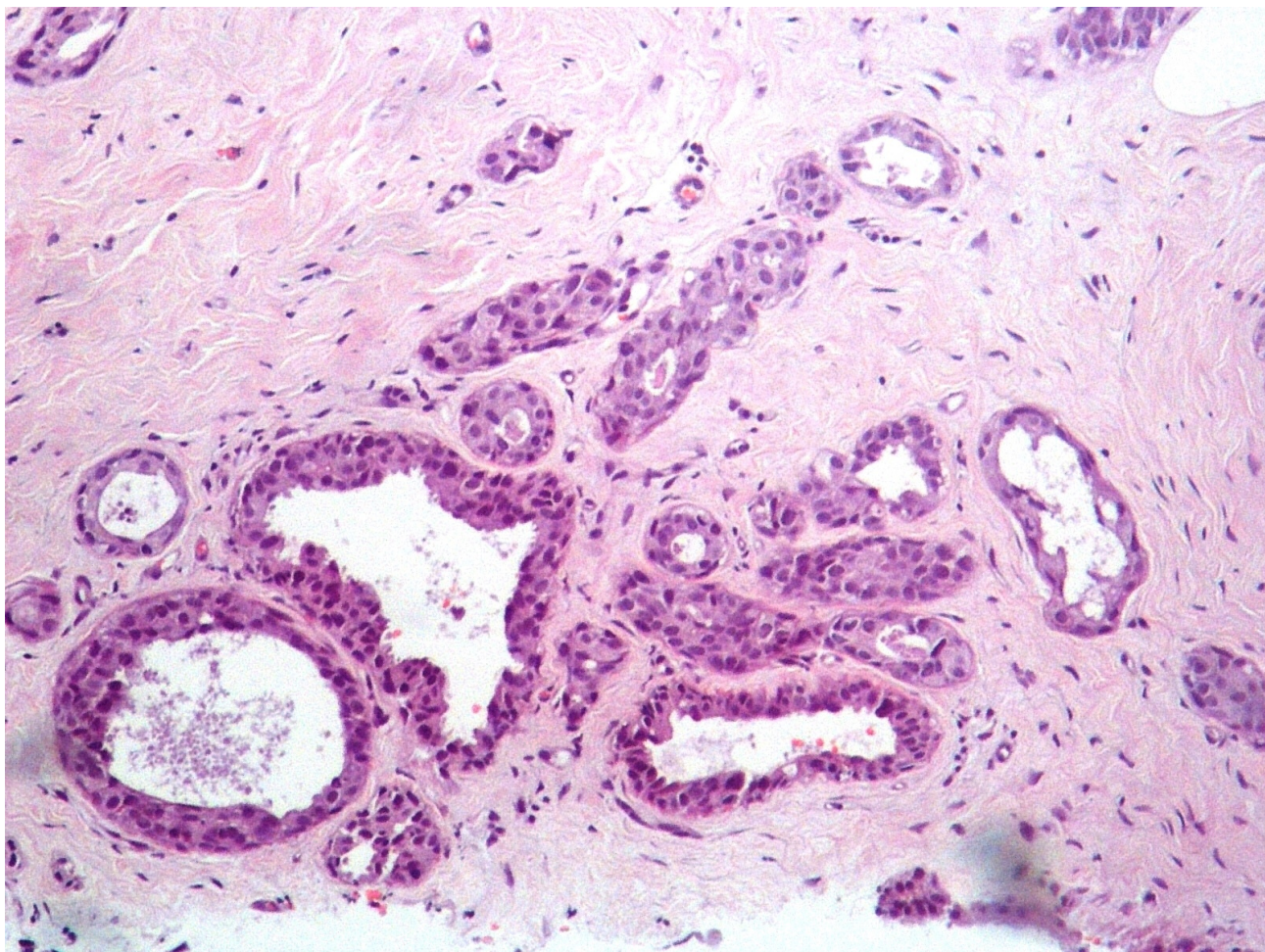


Рисунок 1 - Обычная протоковая гиперплазия. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение x100.

Обычная протоковая гиперплазия с апокриновой метаплазией (Рис. 2) представлена группой крупных клеток неправильной формы с обильной эозинофильной зернистой цитоплазмой. Протоки выстланы 1-3 рядами эпителиальных клеток, причем в некоторых участках протока пролиферация эпителия приводит к формированию папиллярных структур, границы между клетками нечеткие. Ядра клеток увеличены, округлой формы, в большинстве



ядер визуализируются хорошо различимые ядрышки. Ядра расположены преимущественно в базальных отделах клеток, однако по мере распространения к центру протока теряют свою полярность. На апикальной поверхности клеток различимо отшнуровывание апикальной части цитоплазмы в просвет протока. Признаки выраженной ядерной атипии и пространственной гетерогенности отсутствуют.

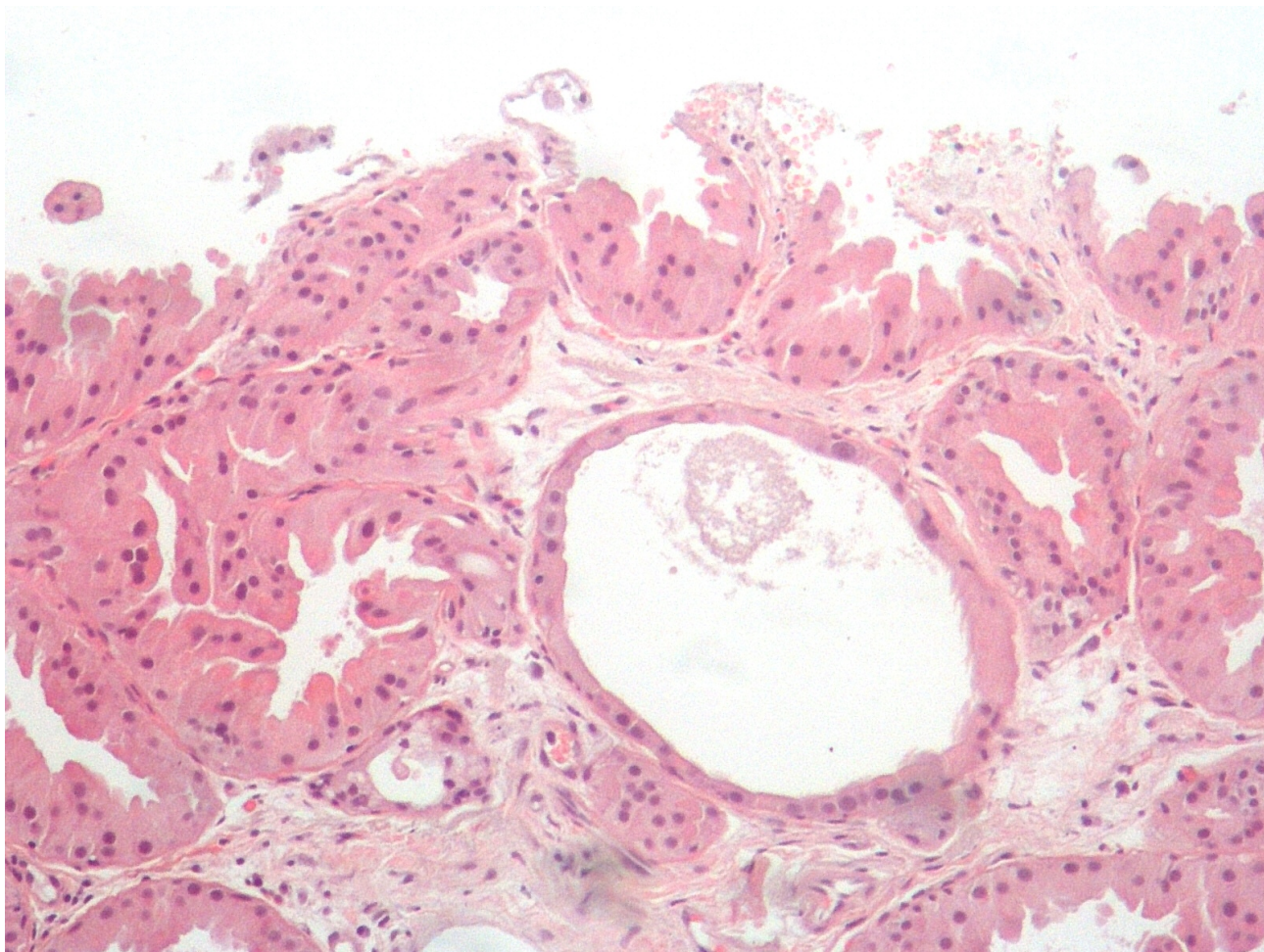


Рисунок 2 - Обычная протоковая гиперплазия с апокринизацией. Окраска гематоксилином- эозином. Увеличение x100.

Фрагмент атипической протоковой гиперплазии (Рис. 3) представлен одной популяцией клеток - эпителиоцитами, которые не полностью заполняют просвет протоков, расположены неравномерно, образуя структуры из 2-3 слоев



клеток. Границы между клетками нечеткие, наблюдаются округлые просветы. Клетки в составе неоплазии мелкие, цитоплазма необильная, ядерно-цитоплазматическое соотношение незначительно увеличено. Ядра клеток округлой формы, гиперхромные, хроматин распределен равномерно, ядрышки не визуализируются. Миоэпителиальные клетки единичные - наблюдаются только в базальном слое протока.

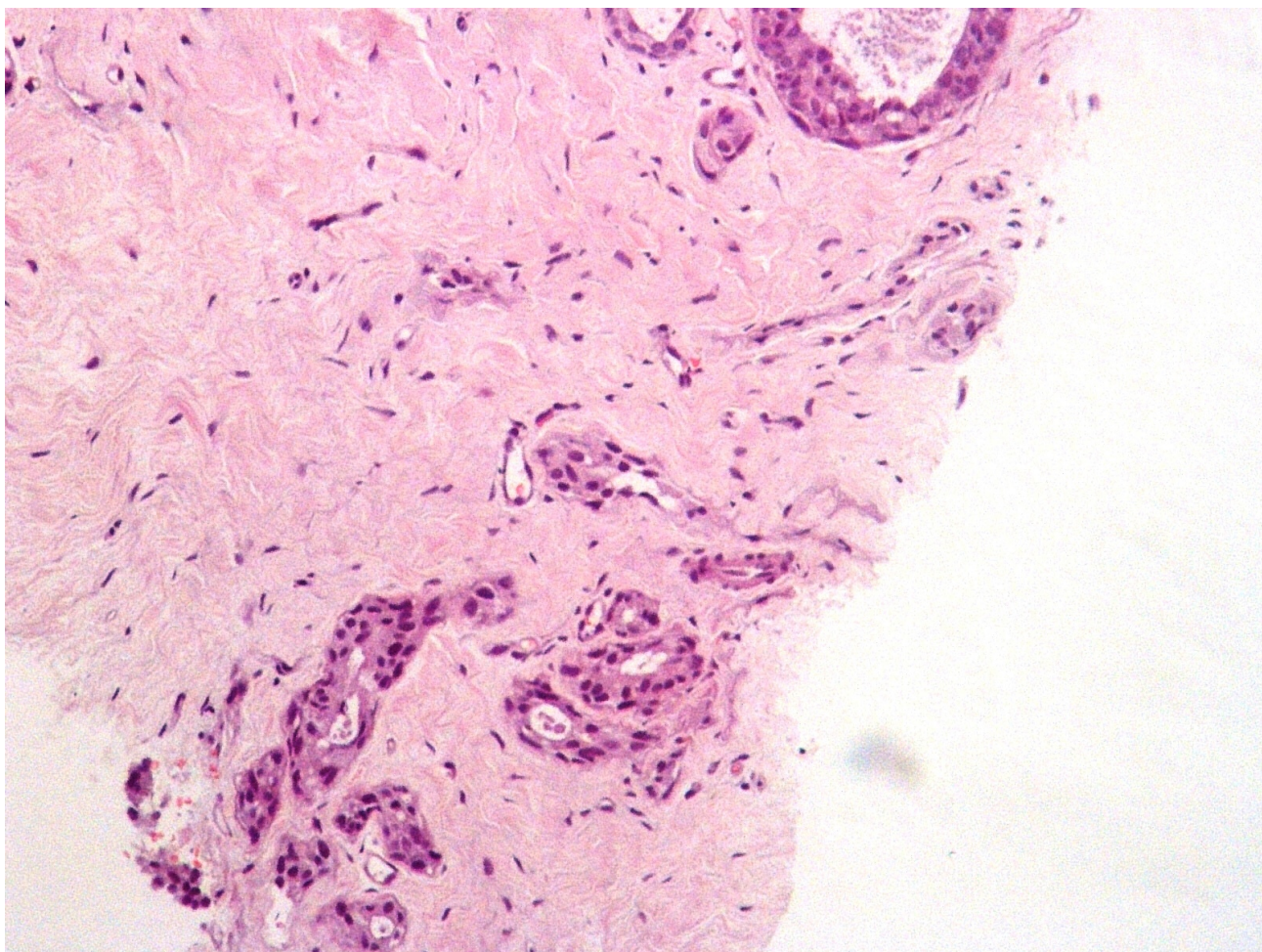


Рисунок 3 - Атипическая протоковая гиперплазия. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение x100.

Дольковая гиперплазия (Рис. 4) наблюдалась в терминальной дольково-протоковой единице. Данная неоплазия представлена полиморфными эпителиальными клетками со светлой цитоплазмой. Форма пораженных долек



молочной железы изменена, количество внутридольковой стромы снижено. Клетки в составе неоплазии расположены многорядно, заполняют просвет дольки не полностью, образуя при этом крибриформные структуры. Клетки долькового эпителия умеренно полиморфны, имеют округлые ядра с равномерно распределенным хроматином, в некоторых ядрах визуализируются ядрышки. Цитоплазма клеток базофильная, количество ее снижено. Наблюдаются единичные митозы. По периферии ацинусов визуализируются продолговатые миоэпителиальные клетки.

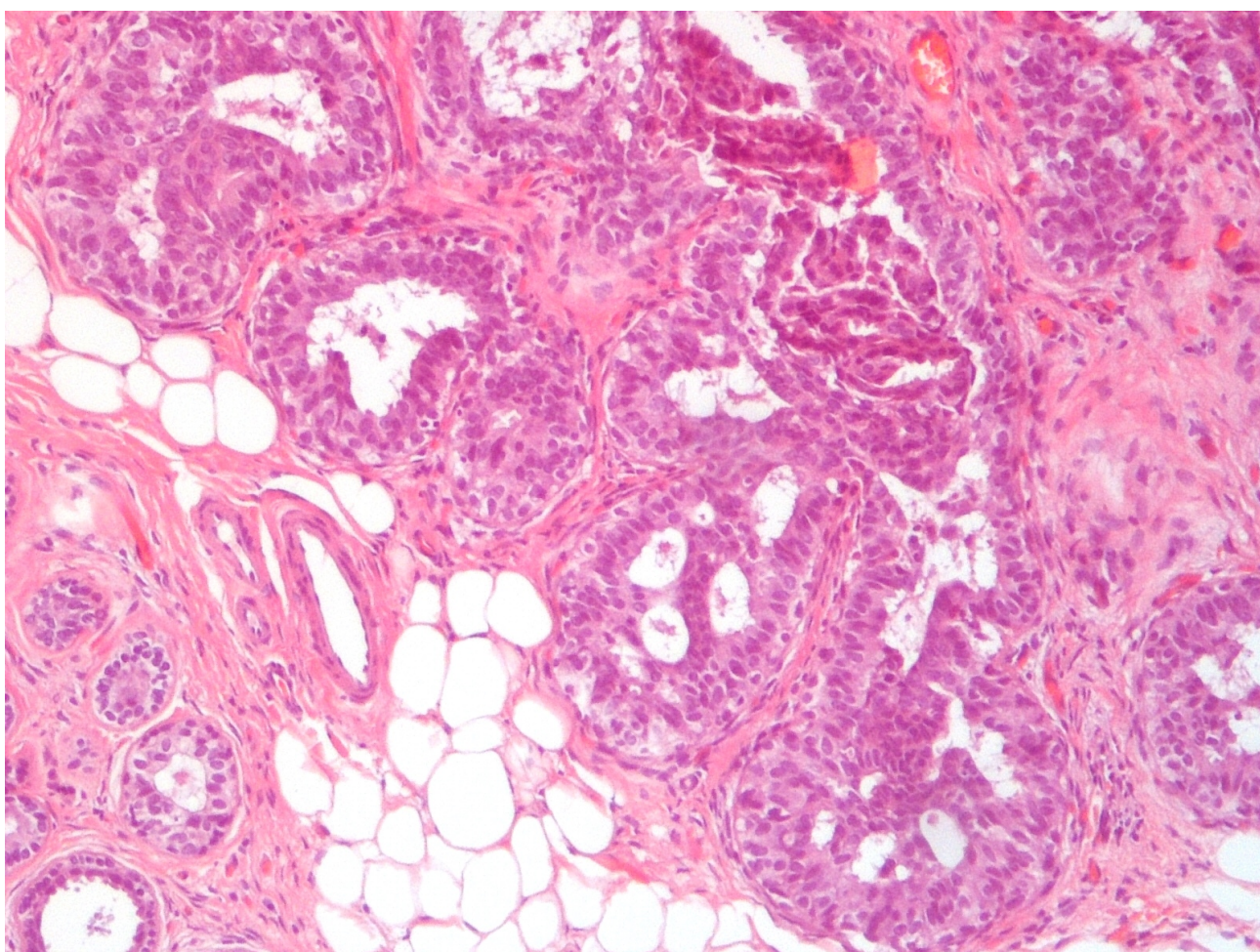


Рисунок 4 - Дольковая гиперплазия. Окраска гематоксилином- эозином. Увеличение x100.

Протоковая карцинома *in situ* (Рис. 5) состоит из популяции эпителиальных клеток, которые практически полностью заполняют проток, образуя при этом крибриформные структуры, щелевидные вторичные просветы. Эпителиальные клетки полиморфны - по периферии протока наблюдается группа крупных цилиндрических клеток со светлой цитоплазмой и относительно крупными ядрами, однако основная часть неоплазии представлена мелкими эпителиоцитами с высокой степенью ядерного полиморфизма: ядра гиперхромные, в некоторых клетках наблюдается перинуклеарное просветление цитоплазмы. В структуре неоплазии наблюдаются единичные патологические митозы. Миоэпителиальные клетки локализованы лишь в основании протока.

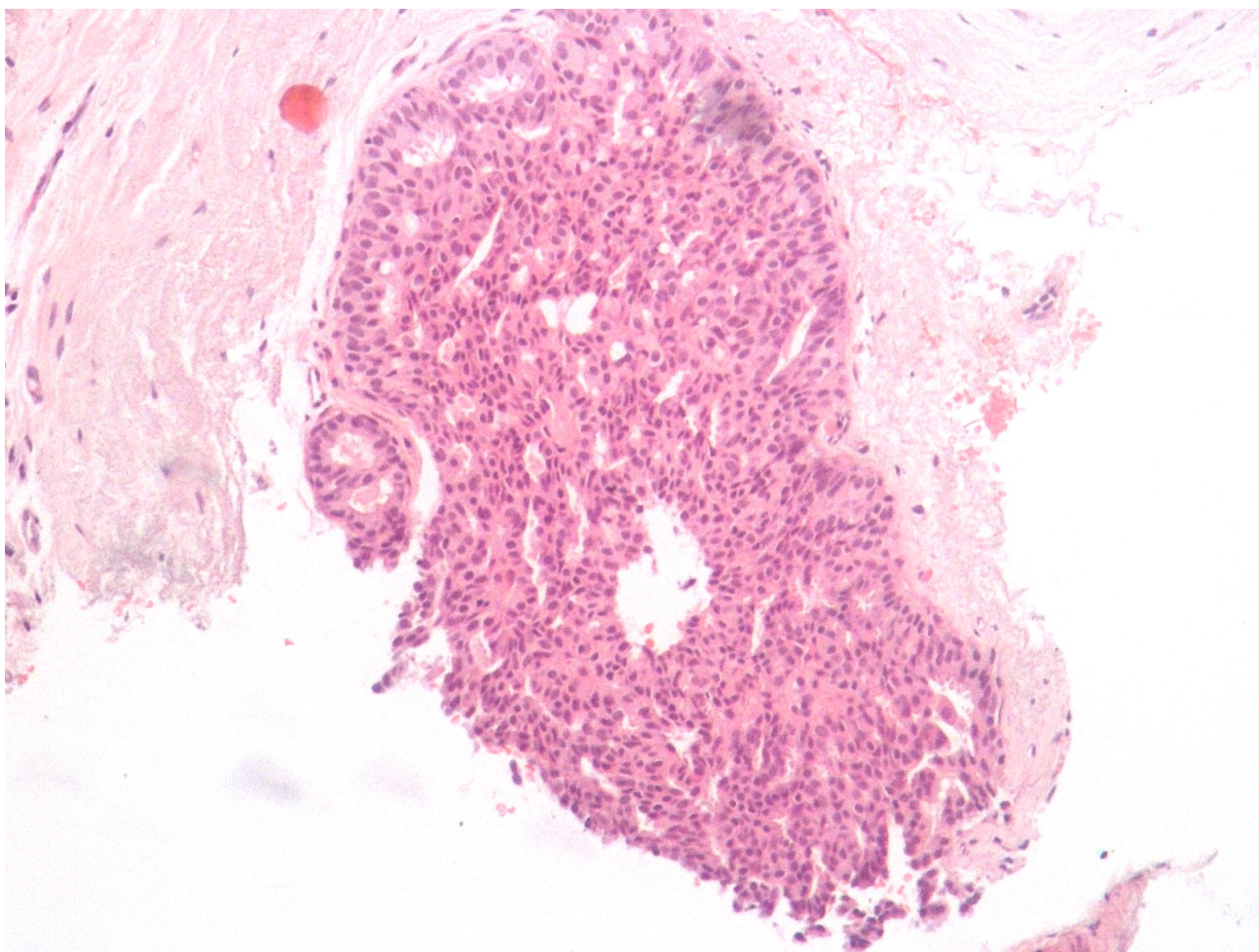


Рисунок 5 - Протоковая карцинома *in situ*. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение x100.



Дольковая карцинома *in situ* представлена мономорфными клетками, образующими солидные структуры, которые заполняют несколько ацинусов молочной железы. Клетки неоплазии округлой, правильной формы со скудной цитоплазмой, в некоторых эпителиоцитах наблюдается перинуклеарное просветление цитоплазмы, вследствие чего такие клетки приобретают вид перстневидных. Ядерно-цитоплазматическое соотношение увеличено, в некоторых ядрах наблюдается неравномерное распределение хроматина и визуализируются ядрышки. В рамках исследуемого препарата наблюдаются множественные митозы, в том числе патологические митотические фигуры.



## **3.2. Результаты иммуногистохимического исследования**

### **3.2.1. Экспрессия эпителиальных иммуногистохимических маркеров**

В ходе исследования проводилось иммуногистохимическое исследование с использованием маркеров эпителиальных клеток: ER, PR, Her2/Neu, p63, Ki-67, CK34be12 (HMWCK), E-cadherin.

Исследование экспрессии ER продемонстрировало отсутствие экспрессии маркера в эпителии нормальных протоков, а также отсутствие или слабую ядерную экспрессию ER в базальных клетках обычной протоковой гиперплазии. Определялся мозаичный паттерн экспрессии ER в фрагменте препарата, соответствующего атипической протоковой гиперплазии. Аналогичный характер экспрессии ER наблюдался в структуре дольковой неоплазии, а также в прилежащих к ней протоковых структурах. В фрагменте дольковой карциномы *in situ* наблюдался мозаичный паттерн ядерной экспрессии ER. В протоковой карциноме *in situ* ядерная экспрессия ER носила диффузный характер (Рис. 6).

Определение экспрессии рецепторов прогестерона продемонстрировало, что в фрагменте, соответствующем обычной протоковой гиперплазии ядерная экспрессия PR носит очаговый характер и преимущественно локализована в эпителиоцитах в основании протока. Экспрессия рецепторов прогестерона в фрагменте обычной протоковой гиперплазии с апокринной метаплазией носила аберрантный характер, т.е. была цитоплазматической, что равнозначно отрицательному результату исследования, в нормальных протоковых и дольковых структурах экспрессия данного маркера также не наблюдалась, а в протоковой карциноме *in situ* наблюдалась мозаичная ядерная экспрессия PR.

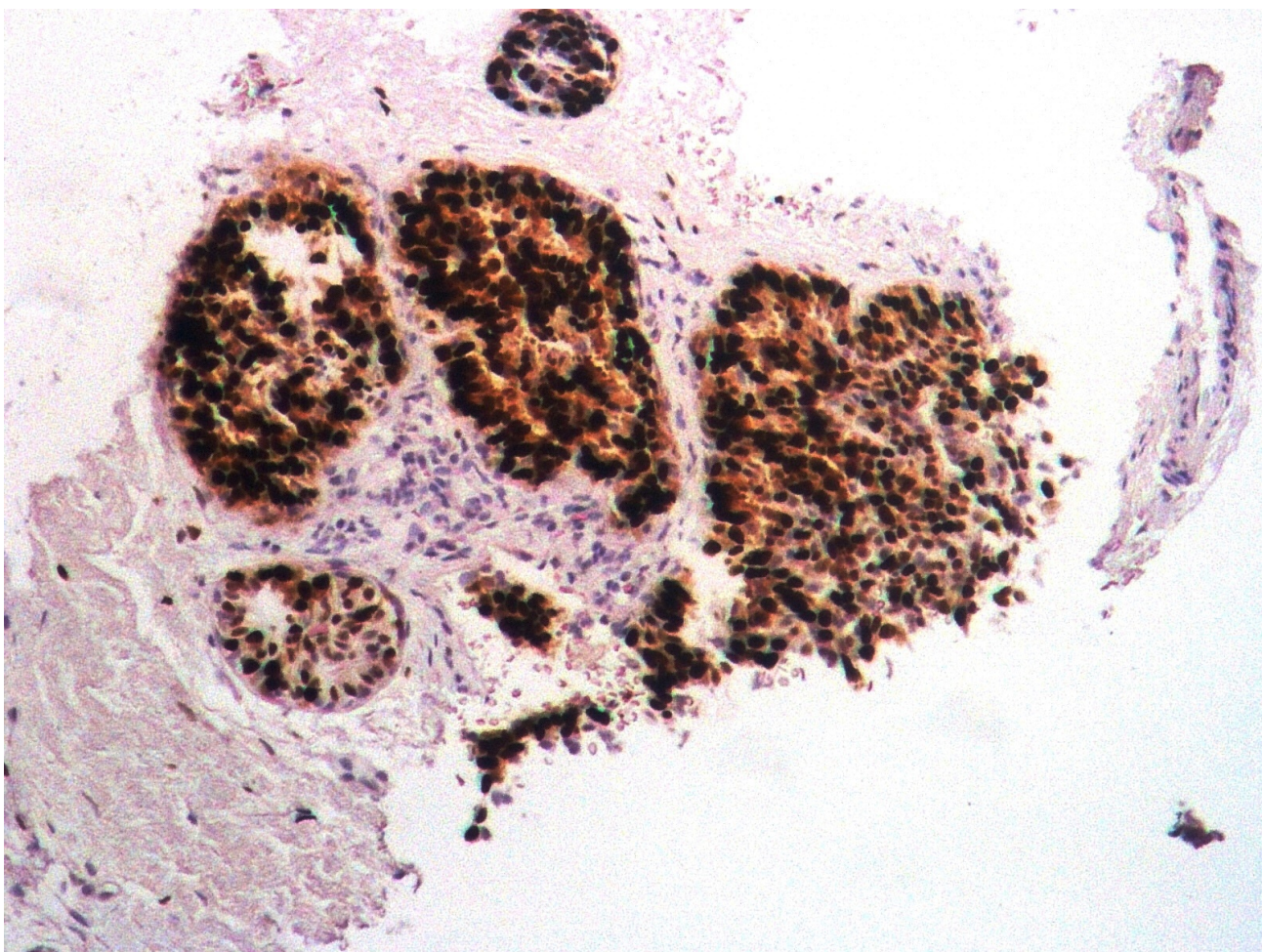


Рисунок 6 - Протоковая карцинома *in situ*. Оценка экспрессии ER методом ИГХ. Увеличение x100.

Экспрессия Her2/neu определялась лишь в двух наблюдениях. При этом в одном из микропрепаратов было показано отсутствие экспрессии данного маркера как в обычной, так и в атипической протоковой гиперплазии. Напротив, в рамках фрагмента протоковой карциномы *in situ* наблюдалось интенсивное мембранно-цитоплазматическое окрашивание клеток протокового эпителия (Рис. 7). В морфологически нормальных протоках молочной железы оценка экспрессии данного маркера продемонстрировала отрицательный результат.



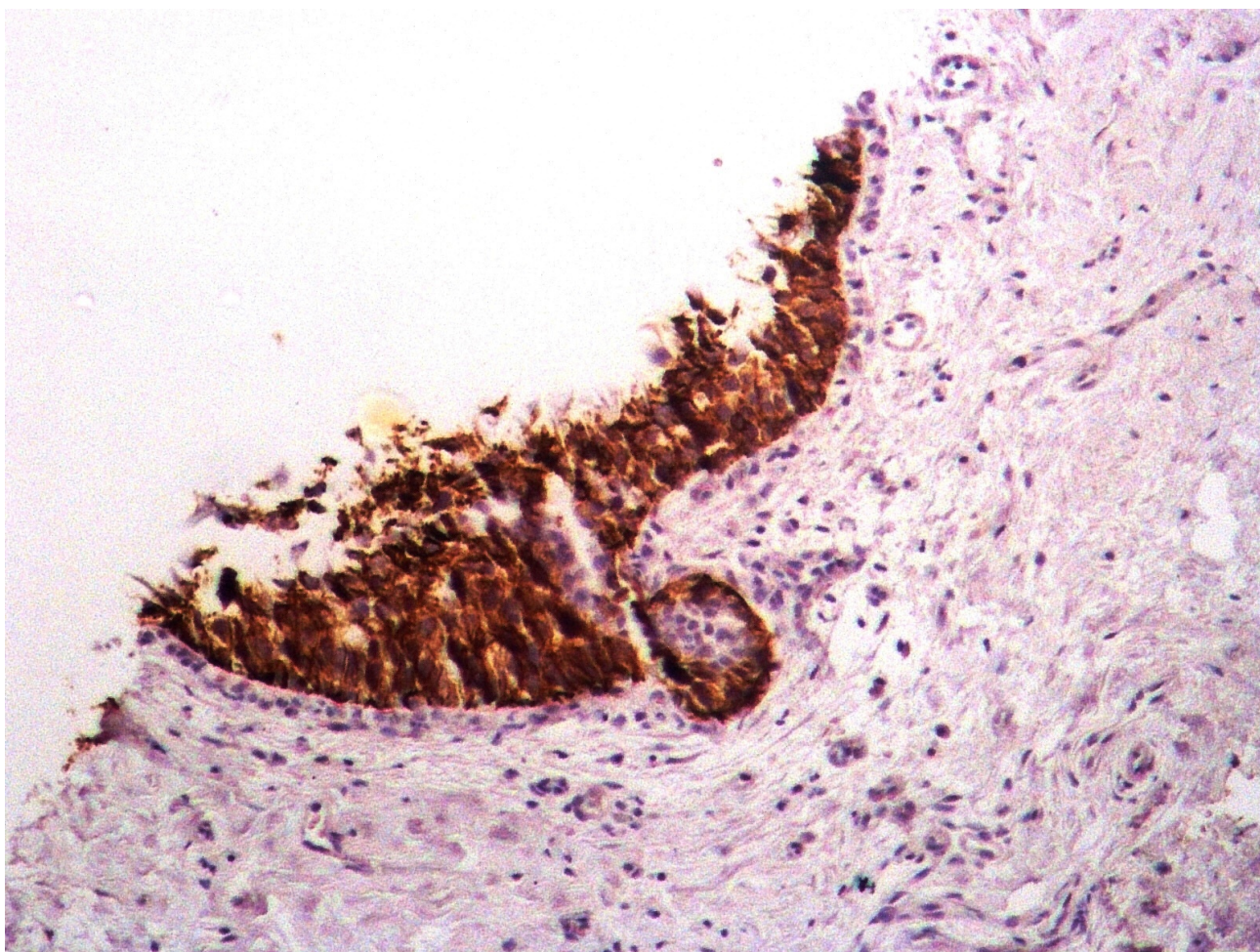


Рисунок 7 - Протоковая карцинома *in situ*. Оценка экспрессии Her-2/neu методом ИГХ. Увеличение x100.

Наличие двух субпопуляций клеток в составе обычной протоковой гиперплазии подтверждают результаты иммуногистохимического исследования: ядерная экспрессия p63, одного из маркеров миоэпителиальных клеток, наблюдается как по периферии образования, у основания протока, так и в центре протока на фоне клеток протокового эпителия, в которых экспрессия маркера не определяется (Рис. 8). В рамках дольковой карциномы *in situ* ядерная экспрессия p63 наблюдалась только в миоэпителиальных клетках по периферии дольки. Аналогичный характер экспрессии p63 был отмечен и в случае протоковой карциномы *in situ*.



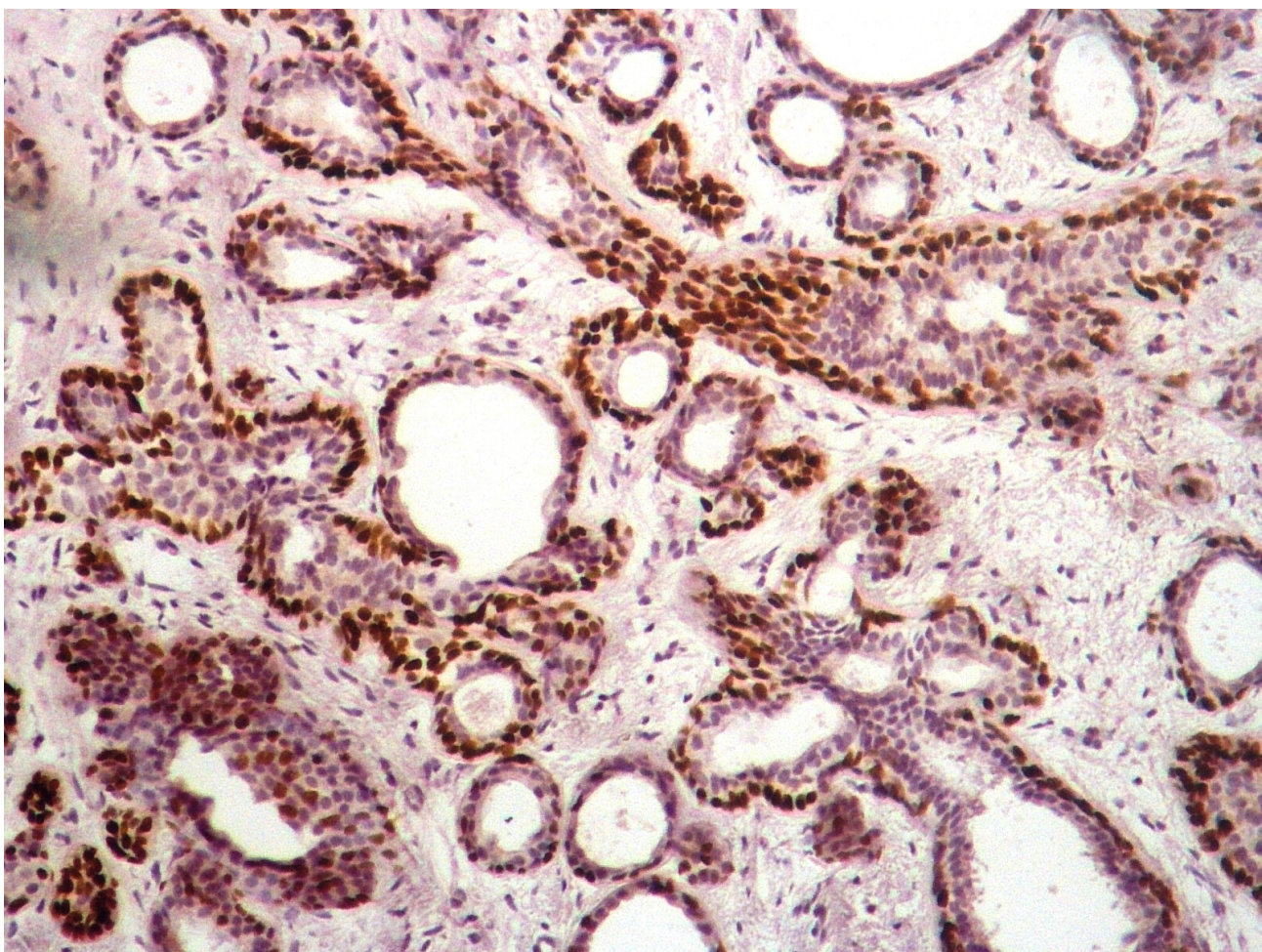


Рисунок 8 - Обычная протоковая гиперплазия на фоне фиброаденоматоза. Оценка экспрессии маркера p63 методом ИГХ. Увеличение x100.

Экспрессия Ki67 оценивалась в 2 из 15 препаратов, при этом экспрессия отсутствовала в фрагментах микропрепарата, соответствующих обычной протоковой гиперплазии, в рамках дольковой неоплазии ядерная экспрессия Ki67 отмечена в единичных клетках. Напротив, в протоковой карциноме *in situ* была обнаружена диффузная ядерная экспрессия Ki67.

Иммуногистохимическое исследование с использованием маркера CK34βE12 (HMWCK) продемонстрировало выраженную диффузную мембранно-цитоплазматическую экспрессию CK34βE12 в клетках обычной протоковой гиперплазии (Рис. 9), в нормальных протоковых структурах, а также



в части клеток в составе атипичной протоковой гиперплазии, тогда как в дольковой карциноме *in situ* экспрессия СК34 $\beta$ Е12 отсутствовала.

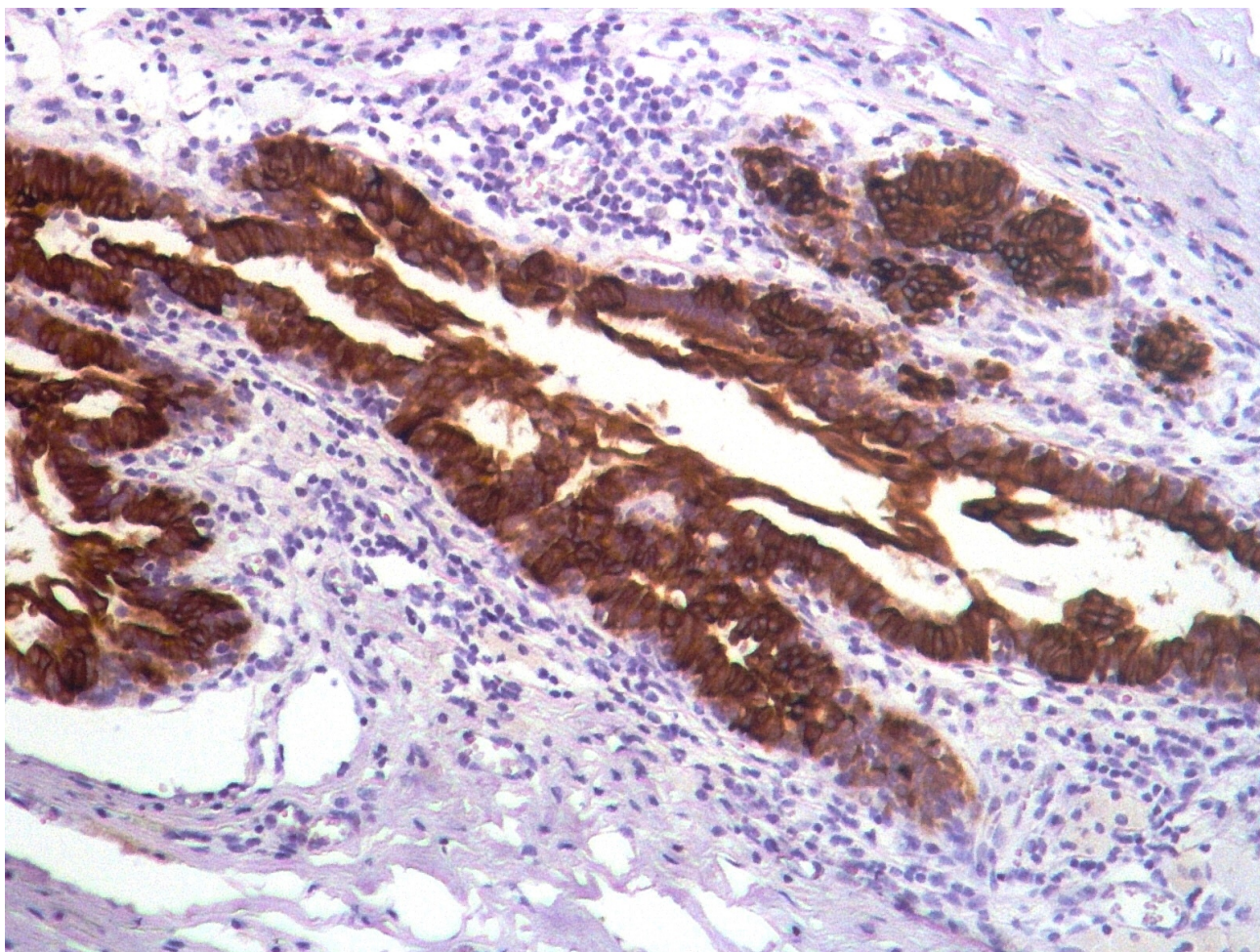


Рисунок 9 - Обычная протоковая гиперплазия. Оценка экспрессии СК34 $\beta$ е12 методом ИГХ. Увеличение x100.

Оценка экспрессии E-cadherin производилась лишь для одного препарата: сочетания дольковой карциномы *in situ* и обычной протоковой гиперплазии. Исследование экспрессии E-cadherin показало снижение мембранной окраски маркера в рамках фрагмента дольковой карциномы *in situ*, однако экспрессия маркера сохранена в протоковых структурах (Рис. 10), включая фрагмент, соответствующий обычной протоковой гиперплазии.



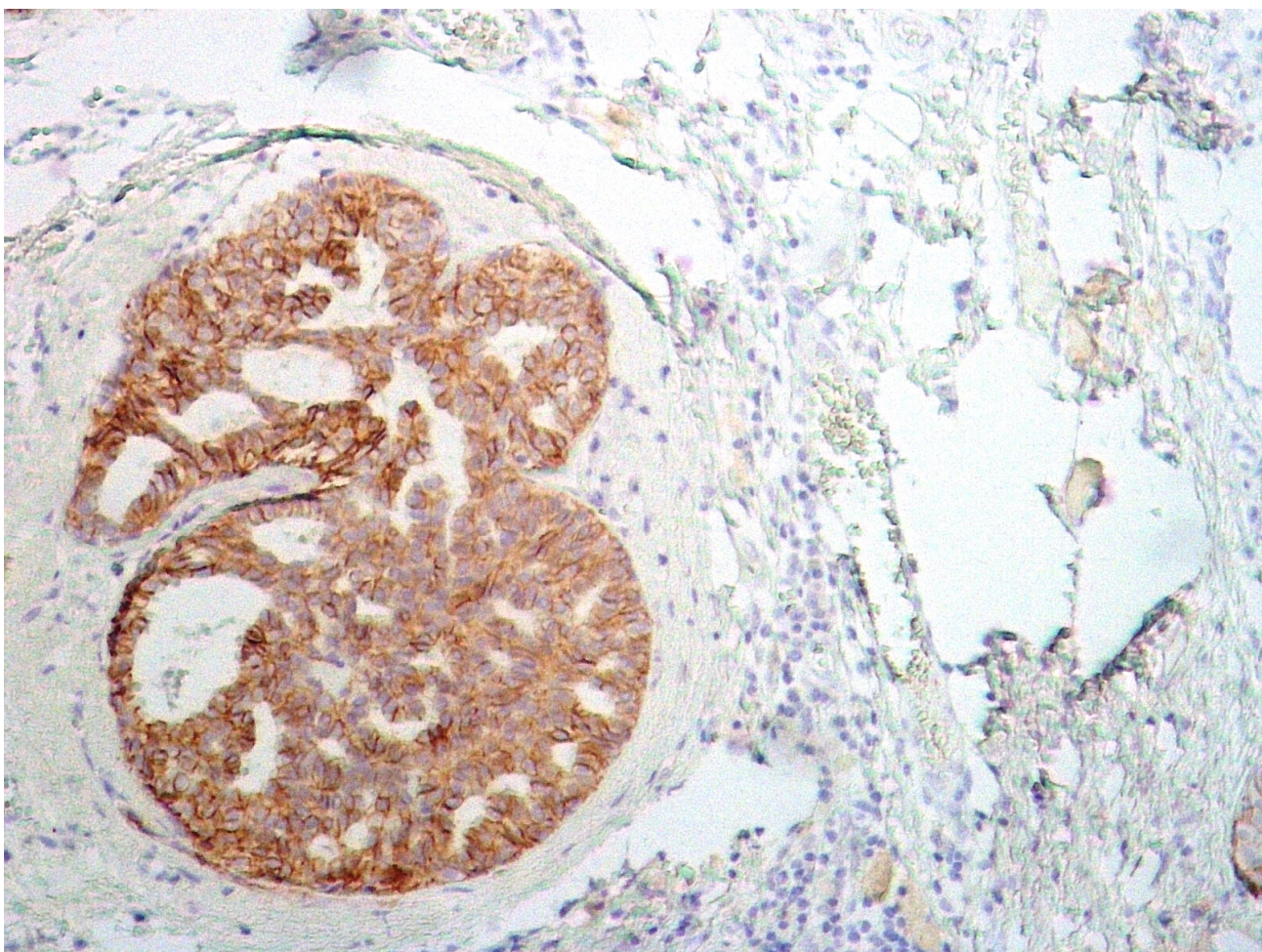


Рисунок 10 - Оценка экспрессии E-cadherin в протоковых структурах молочной железы. Увеличение x100.

### 3.2.2. Экспрессия стромальных иммуногистохимических маркеров

Для оценки стромального микроокружения интраэпителиальных неоплазий молочной железы оценивалась экспрессия таких иммуногистохимических маркеров, как CD3, CD4, CD8, CD20, CD31, CD56, CD68.

Оценка экспрессии CD3, маркера Т-лимфоцитов, продемонстрировала окраску маркера в строме, окружающей дольковую карциному *in situ* (Рис. 11), а также экспрессия наблюдалась в единичных клетках в толще неоплазии. Экспрессия в данном случае носила мембранно-цитоплазматический характер. Стоит отметить, что в дольковой гиперплазии на фоне фибroadеноматоза



экспрессия маркера наблюдалась в единичных клетках, расположенных в междольковой строме. Экспрессия данного маркера в ткани молочной железы, прилежащей к обычной протоковой гиперплазии и морфологически нормальной ткани молочной железы отсутствовала, однако наблюдалась экспрессия CD3 в единичных клетках по периферии протоков и в строме, разделяющей протоковые структуры ADH.

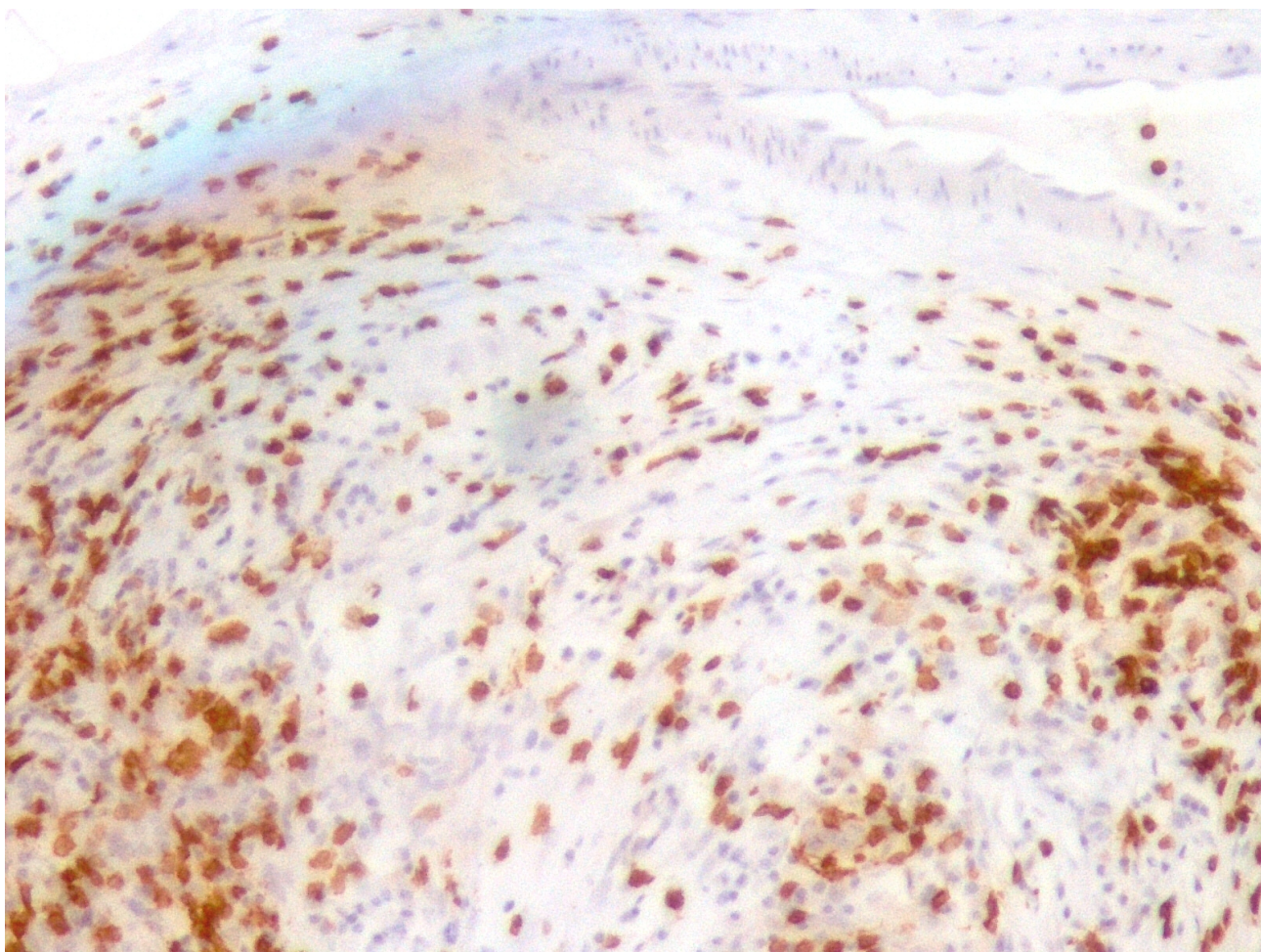


Рисунок 11 - Дольковая карцинома *in situ*. Оценка экспрессии CD3. Увеличение x100.

Сходный паттерн экспрессии наблюдался и при оценке CD4, маркера Т-хелперов: в перилобулярной строме дольковой карциномы *in situ* наблюдалась очаговая экспрессия CD4, однако в массиве эпителиальных клеток неоплазии



экспрессия данного маркера не наблюдалась. Более интенсивная экспрессия CD4 наблюдалась в строме по периферии протоковой карциномы *in situ* с комедо-некрозом (Рис. 12). Стоит отметить, что в рамках этого же микропрепарата экспрессия CD4 отсутствовала в атипичной протоковой гиперплазии на фоне фиброаденоматоза. В другом препарате единичные CD4+ лимфоциты визуализировались в околопротоковой строме только по периферии протоковой карциномы *in situ* с комедо-некрозом, а по периферии протоков, пораженных DCIS без комедо-некроза, экспрессия CD4 не наблюдалась. Отсутствие экспрессии данного маркера отмечено и в рамках дольковой гиперплазии на фоне фиброаденоматоза. В морфологически нормальной ткани молочной железы экспрессия CD4 также не визуализировалась.

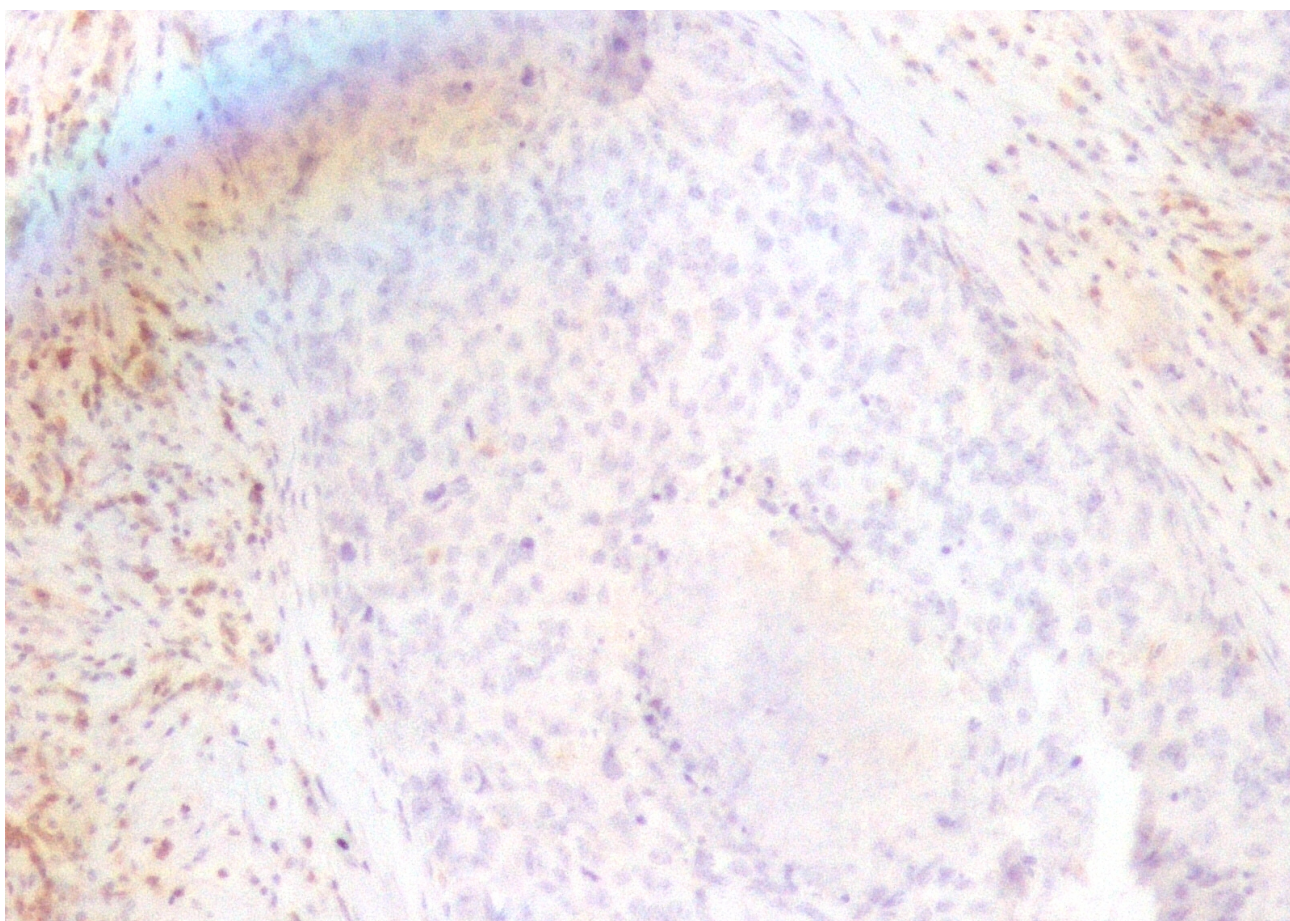


Рисунок 12 - Протоковая карцинома *in situ* с участком комедо-некроза. Оценка экспрессии CD4. Увеличение x100.



Экспрессия маркера CD8 наблюдалась по периферии дольковой карциномы *in situ*, причем была наиболее интенсивна в фрагментах с более выраженным фиброзом стромы по периферии долек. В строме, окружающей дольковую гиперплазию, экспрессия CD8 отсутствовала. Экспрессия CD8 в фрагменте протоковой карциномы *in situ* наблюдалась в группе цитотоксических Т-лимфоцитов по периферии протоков, однако одиночные CD8+ лимфоциты наблюдались и среди атипичных клеток в пределах протоков (Рис. 13). Также экспрессия CD8 была обнаружена в единичных клетках в околопротоковой строме в рамках атипичной протоковой гиперплазии. В фрагменте обычной протоковой гиперплазии экспрессия CD8 отсутствовала.

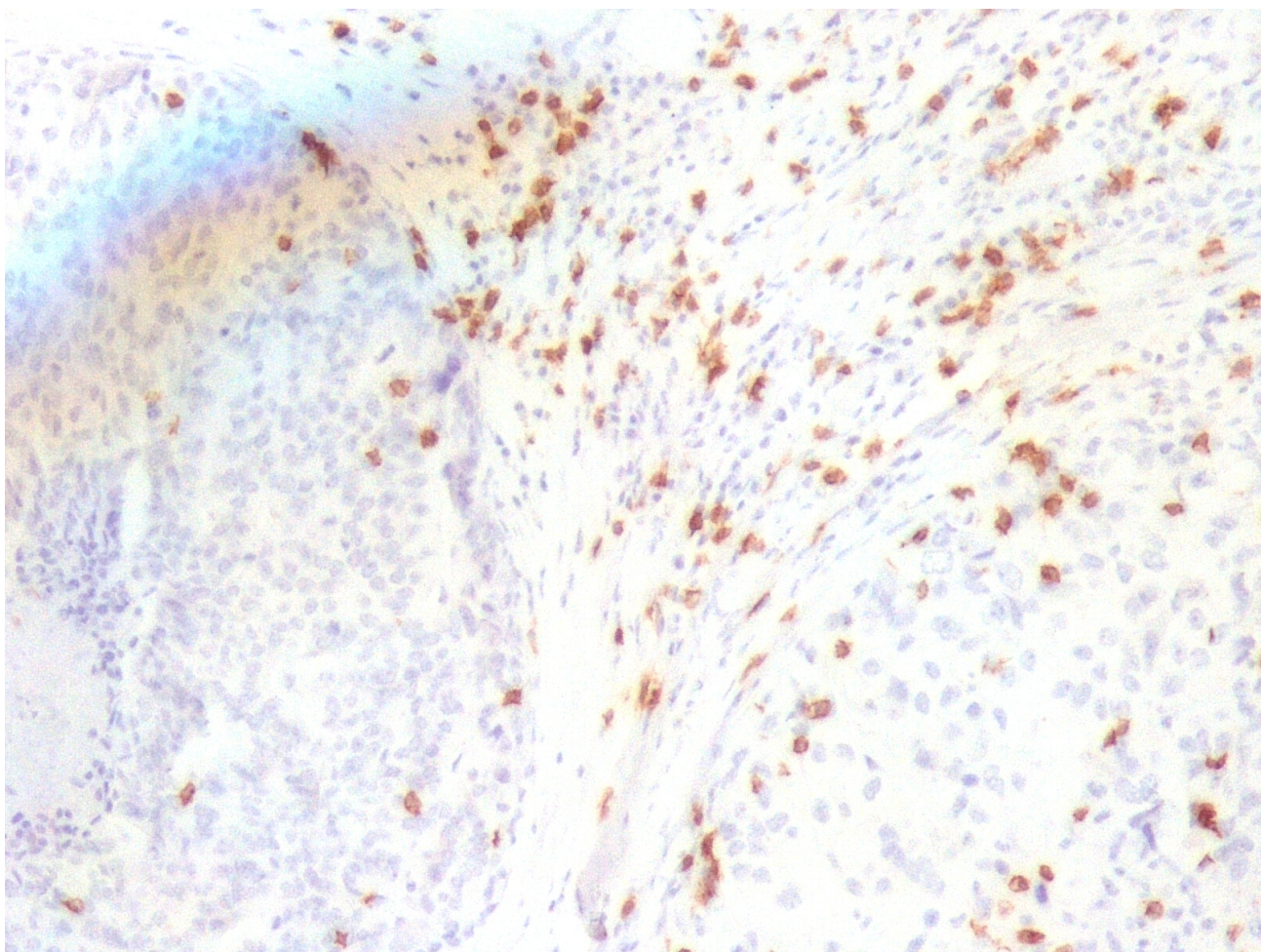


Рисунок 13 - Протоковая карцинома *in situ* с участком комедо-некроза. Оценка экспрессии CD8. Увеличение x100.

Экспрессия CD20 была наиболее интенсивной по периферии фрагмента дольковой карциномы *in situ*, а особенно за зоной перилобулярного фиброза, в меньшей степени экспрессия CD20 наблюдалась в межацинарной строме. Также в фрагменте пролиферации дольковых структур на фоне фиброаденоматоза экспрессия CD20 была отмечена в единичных В-лимфоцитах по периферии пораженной доли. Аналогичный паттерн экспрессии наблюдался в фрагменте протоковой карциномы *in situ* с очагом комедо-некроза: единичные CD20+ лимфоциты наблюдались только в строме по периферии пораженного протока. В околопротоковой строме обычной и атипичной протоковой гиперплазии экспрессия CD20 отсутствовала.

Экспрессия маркера эндотелиоцитов CD31 также носила переменный характер в рамках интраэпителиальной неоплазии различной степени злокачественности. Так, более выраженная экспрессия маркера наблюдалась в фрагментах протоковой карциномы *in situ* (Рис. 14) и дольковой карциномы *in situ*, причем экспрессия наблюдалась как в околопротоковой и околодольковой строме, так и во внутريدольковой строме в рамках дольковой карциномы *in situ*. Также более интенсивная экспрессия маркера наблюдалась в фрагментах, соответствующих лимфоцитарной инфильтрации по периферии LCIS. Экспрессия CD31 наблюдалась также и в фрагменте, соответствующем фиброаденоматозу с очаговой пролиферацией дольковых структур, однако интенсивность экспрессии данного маркера была сопоставима с таковой в фрагментах, соответствующих морфологически нормальным структурам молочной железы: наблюдалась умеренно выраженная экспрессия данного маркера в строме между протоками и дольками молочной железы, а также в сосочковом слое дермы.



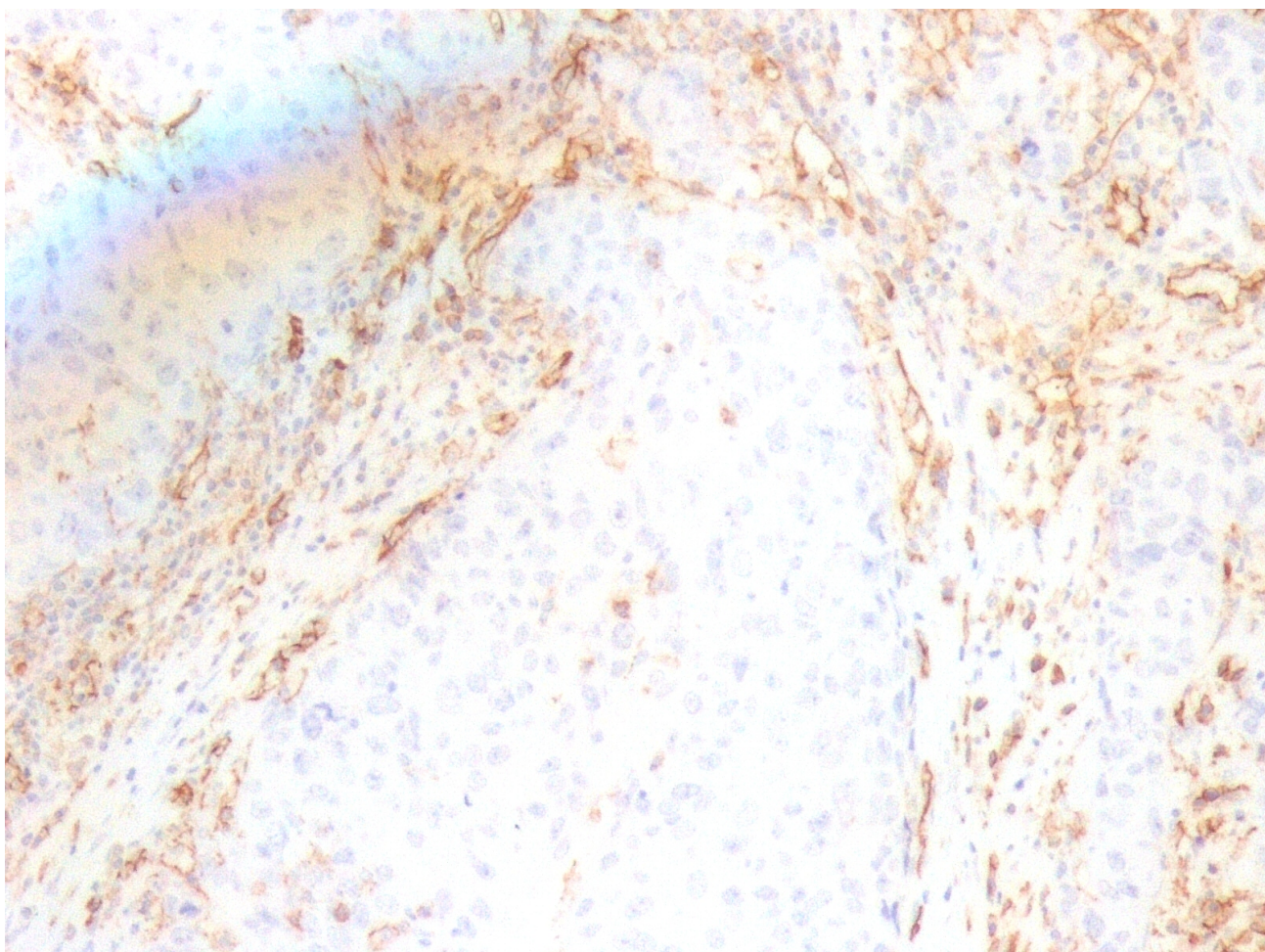


Рисунок 14 - Протоковая карцинома *in situ* с участком комедо-некроза. Оценка экспрессии CD31. Увеличение x100.

Оценка экспрессии CD56, маркера NK-клеток, показала отрицательный результат во всех исследуемых микропрепаратах.

Экспрессия CD68, маркера клеток макрофагального ряда, была более интенсивной в фрагменте препарата по периферии дольковой карциномы *in situ*, в то же время экспрессия данного маркера в меньшей степени наблюдалась в внутридольковой строме неоплазии (Рис. 15). При этом паттерн экспрессии носил цитоплазматический характер, наблюдалась выраженная зернистость окраски. Сходный паттерн наблюдался в рамках протоковой карциномы *in situ*. При этом CD68<sup>+</sup> макрофаги чаще находились в толще эпителия протоков при



DCIS, чем в эпителии долек при LCIS. В фрагменте пролиферации дольковых структур на фоне фиброаденоматоза экспрессия CD68 наблюдалась в соединительной ткани между ацинусами молочной железы. В фрагменте обычной протоковой гиперплазии экспрессия CD68 наблюдалась в единичных клетках по периферии протока. В морфологически нормальной ткани молочной железы экспрессия маркера наблюдалась в единичных клетках стромы молочной железы, а также в единичных клетках сетчатого слоя дермы.

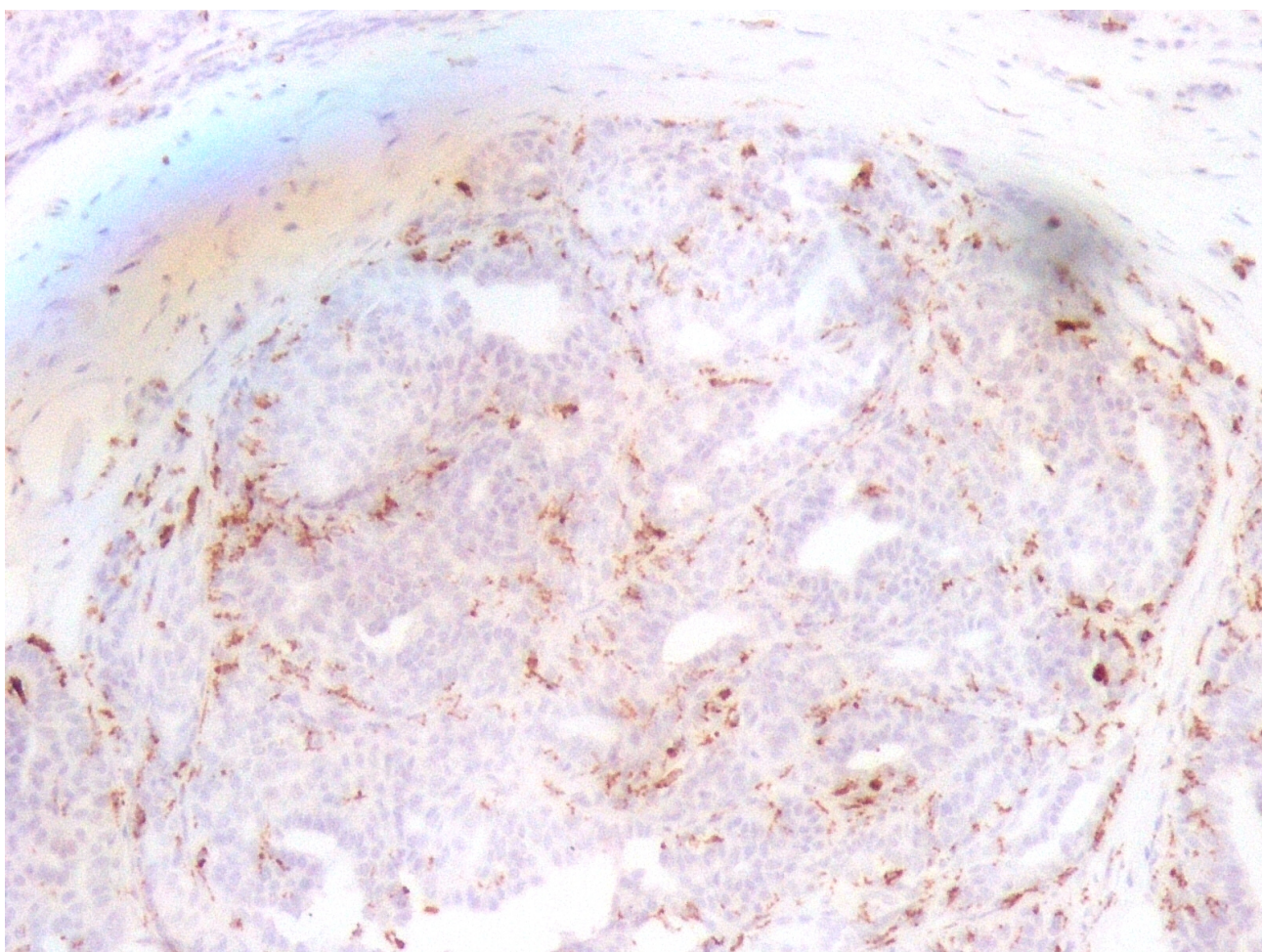


Рисунок 15. Дольковая карцинома *in situ*. Оценка экспрессии CD68. Увеличение x100.

Результаты оценки экспрессии стромальных иммуногистохимических маркеров суммированы в Таблице 1.

Таблица 1. Оценка экспрессии стромальных иммуногистохимических маркеров в интраэпителиальной неоплазии молочной железы.

ИГХ-маркер	Нормальная ткань молочной железы	ALH	LCIS
CD3	CD3-	Единичные CD3+ лимфоциты в составе внутридольковой стромы	CD3+ в околодольковой строме, единичные CD3+ лимфоциты между эпителиоцитами в толще LCIS
CD4	CD4-	CD4-	Очаговая экспрессия CD4+ в околодольковой строме
CD8	CD8-	CD8-	CD8+ по периферии дольки, особенно в областях с выраженным фиброзом стромы
CD20	CD20-	CD20+ в единичных В-лимфоцитах по периферии дольки	CD20+ за областью перилобулярного фиброза, в меньшей степени - в строме между ацинусами
CD31	Умеренная экспрессия CD31+ в междольковой и межпротоковой строме, а также в сосочковом слое дермы	Умеренная экспрессия CD31+ в междольковой строме	Интенсивная экспрессия CD31+ во внутридольковой и междольковой строме, а также в зонах лимфоцитарной инфильтрации
CD56	CD56-	CD56-	CD56-
CD68	Единичные CD68+ клетки в сетчатом слое дермы, а также в строме молочной железы	Единичные CD68+ клетки в строме между ацинусами	Экспрессия CD68+ более выражена в междольковой строме, чем в внутридольковой, единичные CD68+ в толще атипичного эпителия долек

Таблица 1 (продолжение). Оценка экспрессии стромальных иммуногистохимических маркеров в интраэпителиальной неоплазии молочной железы.

ИГХ-маркер	UDH	ADH	DCIS
CD3	CD3-	Единичные CD3+ лимфоциты в строме, окружающей протоки	Единичные CD3+ лимфоциты в строме, окружающей протоки
CD4	CD4-	CD4-	Экспрессия выражена в строме по периферии протоков с комедо-некрозом, в фрагментах без комедо- некроза - экспрессия отсутствует
CD8	CD8-	Единичные CD8+ по периферии протоков	CD8+ по периферии протоков, единичные - в толще атипичного протокового эпителия
CD20	CD20-	CD20-	CD20+ в строме по периферии протоков с комедо-некрозом
CD31	Умеренная экспрессия CD31+ в строме между протоками	Умеренная экспрессия CD31+ в строме между протоками	Интенсивная экспрессия CD31+ в межпротоковой строме
CD56	CD56-	CD56-	CD56-
CD68	Единичные CD68+ в строме по периферии протока	Единичные CD68+ в строме по периферии протока	CD68+ в междольковой строме и среди атипичных клеток протокового эпителия

## Заключение

Иммуногистохимическое исследование является одним из методов повышения точности диагностики и оценки прогноза интраэпителиальных неоплазий молочной железы. Оценка экспрессии эпителиальных и стромальных иммуногистохимических маркеров является перспективным методом дифференциальной диагностики индолентных и потенциально агрессивных неоплазий молочной железы. В результате проведенного исследования были получены следующие данные.

Поскольку карциномы молочной железы подразделяются на несколько иммуногистохимических фенотипов по степени экспрессии ER, PR, Her2/Neu (люминальный А и В подтипы, HER2/neu + и трижды негативный рак) [55], исследование данных маркеров в интраэпителиальных пролиферативных новообразованиях не может быть использовано для оценки риска малигнизации, поскольку отражает лишь фенотип опухоли. Однако не стоит отрицать клиническое значение данных маркеров при оценке чувствительности новообразования к химиотерапии или гормональной терапии [56]. Несмотря на то, что в проведенном исследовании было получено недостаточно данных о прогностическом значении маркера Ki67, данные литературы свидетельствуют о связи высокого уровня экспрессии Ki67 с высокой степенью злокачественности, наличием микроинвазии, комедо-некрозом и повышенным риском местного рецидива DCIS [57].

Исследование p63 продемонстрировало прогрессивное уменьшение экспрессии маркера по мере повышения степени злокачественности интраэпителиальных неоплазий. Данный результат отражает изменение распределения миоэпителиальных клеток: UDH представлена пролиферацией двух типов клеток - миоэпителиальных и эпителиальных протоковых клеток, тогда как DCIS и LCIS представлены пролиферацией лишь эпителиальных

клеток, что приводит к вытеснению миоэпителиальных клеток к периферии. Таким образом, снижение экспрессии p63 в толще интраэпителиальной неоплазии или экспрессия p63 лишь по периферии может являться неблагоприятным признаком.

Маркеры CK34be12 (HMWCK) и E-cadherin могут быть использованы для дифференциальной диагностики дольковой и протоковой неоплазий, однако в исследовании не было получено убедительных данных относительно их прогностического значения при оценке риска малигнизации интраэпителиальных пролиферативных образований молочной железы.

Роль микроокружения опухоли на данный момент является актуальной темой, активно обсуждаемой в мировой литературе. В ходе данного исследования были получены данные о том, что UDH и нормальная ткань молочной железы имеют сходный паттерн экспрессии маркеров иммунокомпетентных клеток (CD3-, CD4-, CD8-, CD20-), что является свидетельством отсутствия в нормальной ткани молочной железы и UDH клеток воспаления. Далее по мере прогрессирования неопластического процесса в ткани молочной железы наблюдалось появление иммунокомпетентных клеток в строме. В ALH экспрессия CD3 подтверждает наличие лимфоцитов в околodольковой строме, а отсутствие экспрессии CD4 и CD8, а также наличие экспрессии CD20 свидетельствует о том, что популяция лимфоцитов в данном случае представлена преимущественно В-лимфоцитами. В ADH, напротив, преобладала популяция CD8-лимфоцитов, что подтверждалось результатами иммуногистохимического исследования (CD3+, CD4-, CD8+, CD20-). В DCIS и LCIS наблюдалось увеличение интенсивности окраски и увеличение разнообразия субпопуляция иммунокомпетентных клеток. Так в строме DCIS были представлены маркеры CD3+, CD4+, CD8+, CD20+, причем более высокий уровень экспрессии был ассоциирован с комедо-некрозом, который, в свою очередь, является одним из факторов риска развития инвазивной карциномы.



Кроме того, клетки положительно окрашивающиеся на лимфоцитарные маркеры обнаруживаются не только в строме, но и непосредственно среди эпителиальных клеток неоплазии. В строме LCIS также наблюдалось высокое разнообразие популяций лимфоцитов, причем более интенсивная экспрессия CD20 наблюдалась к периферии от области перилобулярного фиброза, а повышенная экспрессия CD8 - в областях с выраженным фиброзом стромы. Таким образом, повышение разнообразия и обнаружение иммунокомпетентных клеток в составе интраэпителиальной неоплазии ассоциировано с новообразованиями более высокой степени злокачественности, что позволяет использовать лимфоцитарные маркеры в оценке риска малигнизации.

Была обнаружена более интенсивная экспрессия маркера CD31 в LCIS и DCIS по сравнению с таковой в нормальной ткани молочной железы, UDH, ALH и ADH. Данное наблюдение свидетельствует о более высокой степени васкуляризации в фрагментах, соответствующих преинвазивным карциномам молочной железы. Данный факт может быть применен в оценке риска малигнизации интраэпителиальных новообразований молочной железы, однако препятствием для этого является отсутствие стандартизированных количественных методов оценки степени экспрессии данного маркера.

Обнаружение макрофагального маркера CD68 в строме и толще эпителия как в DCIS так и в LCIS свидетельствует о миграции макрофагов через базальную мембрану протока или дольки соответственно. По данным литературы данный феномен ассоциирован с риском развития инвазивной карциномы молочной железы или с высоким риском локального рецидива DCIS [58], что вероятно связано с протеолитическим действием ферментов макрофагов при их миграции на базальную мембрану, что, в свою очередь, способствует микроинвазии неопластических клеток через базальную мембрану [59]. Стоит отметить, что в UDH, ALH и ADH феномен не наблюдался. Таким

образом, оценка экспрессии CD68 является потенциальным маркером неблагоприятного прогноза интраэпителиальных неоплазий молочной железы.

## Выводы

1. Исследование роли экспрессии эпителиальных иммуногистохимических маркеров при оценке риска малигнизации интраэпителиальных пролиферативных новообразований молочной железы требует дальнейшего изучения. Результаты исследования продемонстрировали лишь значение p63 в дифференциальной диагностике между UDH, ADH и DCIS.

2. Наблюдалось повышение гетерогенности популяции лимфоцитов и интенсивности экспрессии лимфоцитарных иммуногистохимических маркеров (CD3, CD4, CD8, CD20) по мере роста степени злокачественности интраэпителиальных неоплазий. Однако требуются дополнительные исследования о роли лимфоцитарного микроокружения, структуре и распределении субпопуляций лимфоцитов в строме молочной железы при оценке риска малигнизации данных новообразований.

3. Повышение интенсивности экспрессии CD31 в интраэпителиальных новообразованиях молочной железы может быть потенциальным неблагоприятным признаком при оценке риска малигнизации интраэпителиальных неоплазий, свидетельствующим о неоваскуляризации прилежащей к неоплазии стромы. Однако требуются дополнительные исследования и стандартизация количественных критериев экспрессии данного маркера.

4. Обнаружение экспрессии макрофагального маркера CD68 среди эпителиальных клеток интраэпителиальных пролиферативных новообразований молочной железы может являться потенциальным предиктором неблагоприятного прогноза.

## Список использованной литературы

- 1.Liu L., Kawashima M., Toi M. Breast cancer in global health: beyond diversity and inequality // International Journal of Surgery: Global Health. 2020. Vol. 3, № 6. P. e32.
- 2.Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность) / ed. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ “НМИЦ радиологии” Минздрава России, 2020. P. 12, 19, 28, 132, 143.
- 3.Gábor Cserni. Histological type and typing of breast carcinomas and the WHO classification changes over time // Pathologica - Journal of the Italian Society of Anatomic Pathology and Diagnostic Cytopathology. 2017. Vol. 112, № 1. P. 25–41.
- 4.Gao F. et al. Clinical Importance of Histologic Grading of Lobular Carcinoma In Situ in Breast Core Needle Biopsy Specimens // American Journal of Clinical Pathology. 2010. Vol. 133, № 5. P. 767–771.
- 5.Lagios M.D. Heterogeneity of duct carcinoma in situ (DCIS): Relationship of grade and subtype analysis to local recurrence and risk of invasive transformation // Cancer Letters. 1995. Vol. 90, № 1. P. 97–102.
- 6.Sanati S. Morphologic and Molecular Features of Breast Ductal Carcinoma in Situ // The American Journal of Pathology. 2019. Vol. 189, № 5. P. 946–955.
- 7.Carraro Dirce M., Elias Eliana V., Andrade Victor P. Ductal carcinoma in situ of the breast: morphological and molecular features implicated in progression // Bioscience Reports. 2014. Vol. 34, № 1.
- 8.Shin S.J. A Comprehensive Guide to Core Needle Biopsies of the Breast. Cham Springer International Publishing, 2016. P. 337–375.
- 9.Pekar G. Lobular In Situ Neoplasia // Encyclopedia of Pathology. 2018. P. 1–7.
- 10.Gump F.E. Lobular Carcinoma in Situ: Pathology and Treatment // Surgical Clinics of North America. 1990. Vol. 70, № 4. P. 873–883.

- 11.Foote F.W., Stewart F.W. Lobular carcinoma in situ: A rare form of mammary cancer // The American Journal of Pathology. 1941. Vol. 17, № 4. P. 491-496.3.
- 12.Shah V. et al. PIK3CA mutations are common in lobular carcinoma in situ, but are not a biomarker of progression // Breast Cancer Research. 2017. Vol. 19, № 1.
- 13.Aulmann S. et al. Clonality of lobular carcinoma in situ (LCIS) and metachronous invasive breast cancer // Breast Cancer Research and Treatment. 2007. Vol. 107, № 3. P. 331–335.
- 14.Simpson P.T. et al. The diagnosis and management of pre-invasive breast disease: Pathology of atypical lobular hyperplasia and lobular carcinoma in situ // Breast Cancer Research. 2003. Vol. 5, № 5.
- 15.Brogi E., Murray M.P., Corben A.D. Lobular Carcinoma, Not Only a Classic // The Breast Journal. 2010. Vol. 16. P. S10–S14.
- 16.Biernacka A., Lerwill M.F. Diagnostic Evaluation of Usual Ductal Hyperplasia and Atypical Ductal Hyperplasia // Practical Atlas of Breast Pathology. 2018. P. 205–225.
- 17.Lopez-Garcia M.A. et al. Breast cancer precursors revisited: molecular features and progression pathways // Histopathology. 2010. Vol. 57, № 2. P. 171–192.
- 18.Pai R., Berry G.J. Risk Lesions of the Breast: Usual Ductal Hyperplasia, Atypical Ductal Hyperplasia, Lobular Neoplasia, and the Spectrum of Columnar Cell Alterations // Breast Surgical Techniques and Interdisciplinary Management. 2010. P. 613–622.
- 19.Collins L.C. Precursor Lesions of the Low-Grade Breast Neoplasia Pathway // Surgical Pathology Clinics. 2018. Vol. 11, № 1. P. 177–197.
- 20.Halaoui R. et al. Progressive polarity loss and luminal collapse disrupt tissue organization in carcinoma // Genes & Development. 2017. Vol. 31, № 15. P. 1573–1587.
- 21.A Sapino, Kulka J. Breast pathology. Cham: Springer, 2020.

- 22.Stanciu-Pop C. et al. Morphological intratumor heterogeneity in ductal carcinoma in situ of the breast // Virchows Archiv. 2021.
- 23.Van Bockstal M.R. et al. A retrospective alternative for active surveillance trials for ductal carcinoma in situ of the breast // International Journal of Cancer. 2019. Vol. 146, № 5. P. 1189–1197.
- 24.Sinha V.C., Piwnica-Worms H. Intratumoral Heterogeneity in Ductal Carcinoma In Situ: Chaos and Consequence // Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia. 2018. Vol. 23, № 4. P. 191–205.
- 25.Hashmi A.A. et al. Spectrum of Papillary Breast Lesions According to World Health Organization Classification of Papillary Neoplasms of Breast // Cureus. 2020.
- 26.Evers K. Significance of Finding Micropapillary DCIS on Core Needle Biopsy // Academic Radiology. 2011. Vol. 18, № 7. P. 795–796.
- 27.Cho S.Y. et al. Standardized pathology report for breast cancer // Journal of Pathology and Translational Medicine. 2021. Vol. 55, № 1. P. 1–15.
- 28.Alvarado-Cabrero I. Ductal Carcinoma In Situ // Practical Atlas of Breast Pathology. 2018. P. 227–237.
- 29.Bane A. Ductal Carcinoma In Situ: What the Pathologist Needs to Know and Why // International Journal of Breast Cancer. 2013. Vol. P. 1–7.
- 30.Sokolova A., Lakhani S.R. Lobular carcinoma in situ: diagnostic criteria and molecular correlates // Modern Pathology. 2020. Vol. 34, № S1. P. 8–14.
- 31.Calle C., Kuba M.G., Brogi E. Non-invasive lobular neoplasia of the breast: Morphologic features, clinical presentation, and management dilemmas // The Breast Journal. 2020. Vol. 26, № 6. P. 1148–1155.
- 32.King T.A., Reis-Filho J.S. Lobular Neoplasia // Surgical Oncology Clinics of North America. 2014. Vol. 23, № 3. P. 487–503.
- 33.Groen E.J. et al. Finding the balance between over- and under-treatment of ductal carcinoma in situ (DCIS) // The Breast. 2017. Vol. 31. P. 274–283.

- 34.Begg C.B. et al. Clonal relationships between lobular carcinoma in situ and other breast malignancies // Breast Cancer Research. 2016. Vol. 18, № 1.
- 35.Nakhli F., Harrison B.T., King T.A. Non-classic LCIS Versus Classic LCIS Versus Atypical Hyperplasia: Should Management be the Same? // Current Surgery Reports. 2018. Vol. 6, № 1.
- 36.Wen H.Y., Brogi E. Lobular Carcinoma In Situ // Surgical Pathology Clinics. 2018. Vol. 11, № 1. P. 123–145.
- 37.De Brot M. et al. Pleomorphic lobular carcinoma in situ of the breast: a single institution experience with clinical follow-up and centralized pathology review // Breast Cancer Research and Treatment. 2017. Vol. 165, № 2. P. 411–420.
- 38.Bagaria S.P. et al. The Florid Subtype of Lobular Carcinoma In Situ: Marker or Precursor for Invasive Lobular Carcinoma? // Annals of Surgical Oncology. 2011. Vol. 18, № 7. P. 1845–1851.
- 39.Zheng J., Yu J., Zhou T. Clinical characteristics of breast ductal carcinoma in situ with microinvasion: a narrative review // Journal of International Medical Research. 2020. Vol. 48, № 11. P.
- 40.Kim M. et al. Microinvasive Carcinoma versus Ductal Carcinoma In Situ: A Comparison of Clinicopathological Features and Clinical Outcomes // Journal of Breast Cancer. 2018. Vol. 21, № 2. P. 197.
- 41.Champion C.D. et al. DCIS with Microinvasion: Is It In Situ or Invasive Disease? // Annals of Surgical Oncology. 2019. Vol. 26, № 10. P. 3124–3132.
- 42.Peng Y. et al. Update on Immunohistochemical Analysis in Breast Lesions // Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 2017. Vol. 141, № 8. P. 1033–1051.
- 43.Alvarado-Cabrero I., Valencia-Cedillo R., Estevez-Castro R. Preneoplasia of the Breast and Molecular Landscape // Archives of Medical Research. 2020. Vol. 51, № 8. P. 845–850.

44.Schnitt S.J. et al. American Registry of Pathology Expert Opinions: The Spectrum of Lobular Carcinoma in Situ: Diagnostic Features and Clinical Implications // Annals of Diagnostic Pathology. 2020. Vol. 45. P. 151481.

45.Bonacho T., Rodrigues F., Liberal J. Immunohistochemistry for diagnosis and prognosis of breast cancer: a review // Biotechnic & Histochemistry. 2019. Vol. 95, № 2. P. 71–91.

46.Chen X.-Y. et al. Prognostic role of immune infiltrates in breast ductal carcinoma in situ // Breast Cancer Research and Treatment. 2019. Vol. 177, № 1. P. 17–27.

47.Xu F.-F. et al. Prognostic and predictive significance of tumor infiltrating lymphocytes for ductal carcinoma in situ // OncoImmunology. 2021. Vol. 10, № 1. P.

48.Yu B.-H. et al. Cytoplasmic FOXP1 expression is correlated with ER and calpain II expression and predicts a poor outcome in breast cancer // Diagnostic Pathology. 2018. Vol. 13, № 1.

49.Guo S. et al. EZH2 overexpression in different immunophenotypes of breast carcinoma and association with clinicopathologic features // Diagnostic Pathology. 2016. Vol. 11, № 1.

50.Genco I.S. et al. High EZH2 expression in ductal carcinoma in situ diagnosed on breast core needle biopsy is an independent predictive factor for upgrade on surgical excision // Pathology - Research and Practice. 2020. Vol. 216, № 12. P. 153283.

51.Beca F. et al. EZH2 protein expression in normal breast epithelium and risk of breast cancer: results from the Nurses' Health Studies // Breast Cancer Research. 2017. Vol. 19, № 1.

52.Xu Z. et al. Decreased Nek9 expression correlates with aggressive behaviour and predicts unfavourable prognosis in breast cancer // Pathology. 2020. Vol. 52, № 3. P. 329–335.



53.Toss M.S. et al. Prolyl-4-hydroxylase A subunit 2 (P4HA2) expression is a predictor of poor outcome in breast ductal carcinoma in situ (DCIS) // British Journal of Cancer. 2018. Vol. 119, № 12. P. 1518–1526.

54.Yu L.-N. et al. FAP-a and GOLPH3 Are Hallmarks of DCIS Progression to Invasive Breast Cancer // Frontiers in Oncology. 2019. Vol. 9.

55.Iqbal B., Buch A. Hormone receptor (ER, PR, HER2/neu) status and proliferation index marker (Ki-67) in breast cancers: Their onco-pathological correlation, shortcomings and future trends // Medical Journal of Dr. D.Y. Patil University. 2016. Vol. 9, № 6. P. 674.

56.Kinsella M.D. et al. Estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and HER2 expression pre- and post- neoadjuvant chemotherapy in primary breast carcinoma: a single institutional experience // International Journal of Clinical and Experimental Pathology. 2012. Vol. 5, № 6. P. 530–536.

57.Yerushalmi R. et al. Ki67 in breast cancer: prognostic and predictive potential // The Lancet Oncology. 2010. Vol. 11, № 2. P. 174–183.

58.Nelson A.C., Machado H.L., Schwertfeger K.L. Breaking through to the Other Side: Microenvironment Contributions to DCIS Initiation and Progression // Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia. 2018. Vol. 23, № 4. P. 207–221.

59. Chen X.-Y. et al. Higher density of stromal M2 macrophages in breast ductal carcinoma in situ predicts recurrence // Virchows Archiv. 2020. Vol. 476, № 6. P. 825–833.